SETTEMBRE 2011
24

www.green.incaweb.org

Microreattori a flusso

Il laboratorio in tasca

LA "TRICOCHIMICA"
Molecole e capelli

CHIMICA E NANOTECH
Il restauro sostenibile

I MISTERI DELL'UNIVERSO
La materia oscura

CHIMICA ANALITICA
Ecco i biosensori

IL BATTERIO "KILLER"
E. coli 0104:H4

BIOCHIMICA E INFORMATICA
Il Dna computing

Prezzo di copertina € 4,00 Periodico trimestrale d'informazione edito dal Consorzio Interuniversitario Nazionale "La Chimica per l'Ambiente" (INCA) anno VI - N.24 Settembre 2011

Quando la scienza non basta

Cari lettori,
le tranquille vacanze estive sono state un momento di riflessione sul ruolo della scienza per il futuro dell'umanità e sulla piccola parte giocata dal nostro giornale nell'ambito della divulgazione, una goccia in un oceano, ma di tante, tantissime, gocce è fatto il mare.
Purtroppo la situazione sociale, politica, economica del mondo globalizzato ci fa capire quanto siamo ancora molto lontani dal raggiungere uno sviluppo sostenibile e che la scienza da sola non basta.
Un chiaro esempio è lo sperpero di acqua connesso a quello del cibo, uno spreco nello spreco. Anch'io - come forse molti di voi - non mi sono mai davvero soffermato a meditare su quest'aspetto, caduto nell'oblio a seguito del trantran quotidiano, sebbene avessimo parlato diffusamente di crisi idrica mondiale solo due anni fa, sul n. 17 di *Green*. Così questa mia riflessione è frutto della lettura di alcuni articoli sull'argomento comparsi negli ultimi mesi sui quotidiani.
Da questi ho anche appreso della *Giornata Europea contro lo spreco di acqua* in programma per il 9 novembre prossimo e che, per arginare il fenomeno, nel luglio scorso il Parlamento dell'Ue ha chiesto ufficialmente di dichiarare il 2013 anno europeo contro lo spreco alimentare.
"Accidenti, sono scadute le uova!", quante volte è capitato nella mia famiglia. E a voi? Et voilà, in quattro e quattr'otto la classica confezione da sei finisce nella pattumiera (possibilmente in quelle della raccolta differenziata). Già, e senza che ce ne rendiamo conto 1.200 litri d'acqua vengono dilapidati inutilmente.
Sì, perché secondo i dati del *Water Footprint Network* (www.waterfootprint.org), una Ong internazionale supervisionata - tra gli altri - da Unesco e Wwf, considerando tutti i consumi legati alla produzione, per ottenere un uovo da 60 grammi servono ben 200 litri d'acqua.
Scioccati dai numeri? C'è di peggio. Un altro classico è il latte scaduto, prendiamo la bottiglia da litro e la gettiamo assieme a 1.000 litri di oro blu. Se distrattamente ci casca un pacco di farina, se ne vanno inutilmente altri metri cubi, visto che per produrre un chilo di grano servono 1.300 litri d'acqua, per il riso - che ancora sfama ampie aree del pianeta - addirittura 3.400.
E che dire di alcuni dei piaceri della tavola, assai costosi in termini di risorse idriche: una succulenta bistecca di manzo (15.500 l/kg), gustosi salumi (suino: 4.800 l/kg) e formaggi (in media 5.000 l/kg), magari accompagnati da buon bicchiere di vino (per 125 ml: 120 l) o da un invitante boccale di birra (per 250 ml: 75 l), per finire con una bella tazzina di caffè (per 125 ml: 140 l) dolcificata con zucchero di canna (1.500 l/kg).
Allo sperpero domestico se ne aggiunge uno su scala ben più ampia. Secondo *Last Minute Market* (LMM, www.lastminutemarket.it), uno *spin-off* dell'Università di Bologna, nel 2009 in Italia non sono state raccolte per motivi di convenienza economica 177mila tonnellate e mezzo di mele, per la cui produzione sono stati utilizzati oltre 124 miliardi di litri di acqua, più di 378mila tonnellate di arance (attorno ai 190 miliardi di litri), quasi 3,5 milioni di tonnellate di pomodori (circa 644 miliardi di litri) e praticamente la stessa quantità di olive (3,4), per uno spreco record di 6.500 miliardi di litri d'acqua.
L'acqua dolce è una risorsa difficilmente rinnovabile, soprattutto in relazione al tasso di utilizzo e agli sprechi. Sempre secondo i dati pubblicati da LMM, solo lo 0,001%, dei circa 1,4 miliardi di chilometri cubi d'acqua presenti sul pianeta è realmente fruibile. Nelle sue analisi economiche la World Bank ci ricorda che: "L'acqua la possiamo contenere, incanalare, raccogliere, purificare, confezionare, trasportare e trasformare, ma non la possiamo *produrre*".
Al pari di tanti altri, questo esempio, ricco di dati sconcertanti, sottolinea come lo sviluppo sostenibile non potrà mai prescindere dall'atteggiamento responsabile dei cittadini/consumatori e del mondo della politica e dell'economia. Se non evitiamo sprechi inutili e speculazioni, il futuro sarà sempre più incerto e il solo progresso scientifico e tecnologico, seppur indispensabile, non potrà certo migliorare la situazione.
Meditate lettori, meditate.

la Scienza al servizio dell'Uomo e dell'Ambiente

SETTEMBRE 2011

24

Periodico trimestrale d'informazione
edito dal Consorzio Interuniversitario Nazionale
"La Chimica per l'Ambiente" (INCA)
in collaborazione con
la Società Chimica Italiana (SCI)

SOMMARIO

In copertina: fotomontaggio di una synthesis machine (vedi pag. 33)

Missione STS-135: l'ultimo volo dello Shuttle

Alle 11.29 dell'8 luglio 2011 (le 17.29 in Italia), l'Atlantis decolla dal Kennedy Space Center (Orlando, Florida) per la sua missione finale, rientrerà il 21 luglio 2011 alle 5.57 del mattino (le 11.57 da noi). È il 135° e ultimo volo spaziale del programma Space Shuttle della Nasa, il primo partì il 12 aprile 1981. Con lo Shuttle hanno volato per trent'anni anni anche i sogni di molti di noi, curiosi di scoprire i segreti dell'universo.
[Immagine: Nasa/Bill Ingalls]

Direttore responsabile
Fulvio ZECCHINI
Consorzio INCA

Comitato scientifico

Angelo ALBINI
(Università di Pavia)
Consiglio Scientifico del Consorzio INCA e Coordinatore del Gruppo Interdivisionale di Green Chemistry della SCI

Vincenzo BARONE
(Scuola Normale di Pisa)
Presidente della SCI

Armandodoriano BIANCO
(Università "La Sapienza" di Roma)
Past-President della SCI sezione Lazio

Franco CECCHI
(Università di Verona)
Presidente del Consorzio INCA

Giovanni SARTORI
(Università di Parma)
Consiglio Scientifico del Consorzio INCA

Corrado SARZANINI
(Università di Torino)
Presidente della Divisione di Chimica dell'Ambiente e dei Beni Culturali della SCI

Ferruccio TRIFIRÒ
(Università di Bologna)
Direttore de "La Chimica e l'Industria" edita dalla SCI

Luigi CAMPANELLA
(Università "La Sapienza" di Roma)
Consulente esterno, Coordinatore del Consiglio Scientifico del Consorzio INCA

Direzione, redazione e amministrazione
Rivista Green c/o Consorzio INCA
Via delle Industrie, 21/8
30175 Venezia - Marghera
Tel.: (+39) 041 532-1851 int. 101
Fax: (+39) 041 259-7243
Registrazione al Tribunale di Venezia
n° 20 del 15 luglio 2006

Progetto grafico e impaginazione
Publileo s.r.l.
publileo@alice.it

Stampa
Europrint s.r.l. - Quinto di Treviso

Per informazioni e abbonamenti
www.green.incaweb.org
redazione@green.incaweb.org
Fax: (+39) 041 259-7243

Dalle sostanze che costituiscono i capelli, ai composti usati per la loro igiene e cosmesi

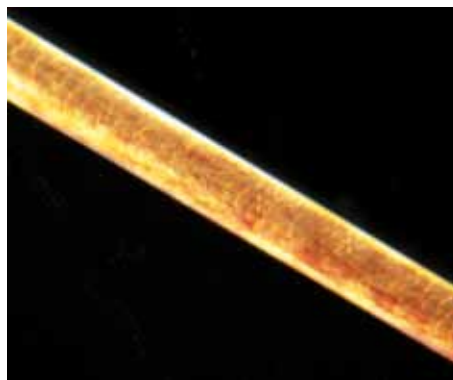
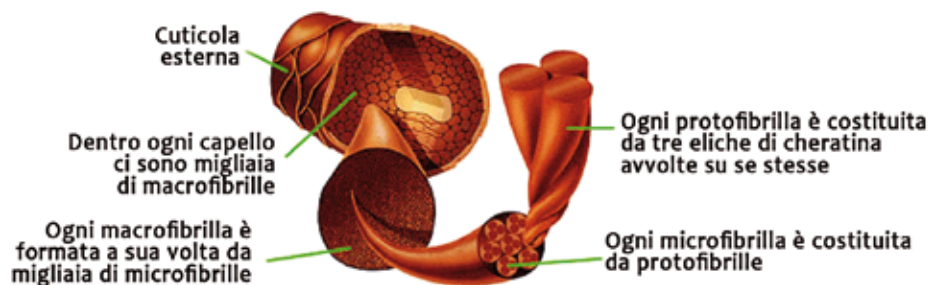
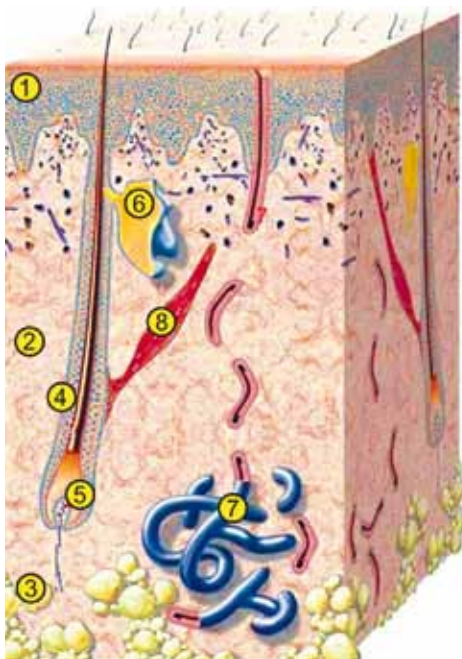
La "tricochimica" capelli e molecole

di Tiziana Bernello

Forse qualcuno ancora si stupirà di scoprire quanta chimica c'è nel nostro quotidiano. Qui con il neologismo "tricochimica" vogliamo attirare la curiosità del lettore su un argomento molto particolare: molecole e capelli. Oltre alla loro funzione fisiologica, questi ultimi hanno un importante ruolov sociale e sono uno dei più potenti mezzi di espressione della personalità, della condizione e della vanità maschile e femminile. Alcuni prodotti usati per la loro igiene e cosmesi possono essere dannosi per la salute di chi li usa e per particolari categorie di lavoratori. Di seguito vedremo assieme quelli più pericolosi.

Anatomia di un capello

I capelli nascono nei follicoli piliferi, delle invaginazioni dell’epidermide del cuoio capelluto che raggiungono il derma sottostante e terminano in profondità con una formazione concava, il bulbo.
Per impedire che diventino secchi all’aria e, quindi, fragili, i capelli sono lubrificati costantemente dal sebo, una sostanza ricca di trigliceridi e colesterolo secreta nei follicoli dalle ghiandole sebacee.
Il bulbo racchiude la papilla dermica altamente vascolarizzata, deputata al nutrimento del pelo. Al di sopra troviamo le cellule della matrice e quelle che producono melanina (i melanociti), il pigmento responsabile del colore dei capelli. La parte cheratinizzata che emerge dal follicolo pilifero, il fusto, è costituita da cellule morte, la radice, invece, resta vitale per circa tre anni. In questo periodo il capello continua a crescere alla velocità di circa un centimetro e mezzo al mese poiché le cellule continuano a duplicarsi alla sua base, allungandolo. Dopo un triennio di vita, il capello cade, ma nello stesso follicolo può crescerne un altro.
Il fusto del capello è costituito da tre strati: *cuticola, corteccia e midollo*. La prima è composta a sua volta da circa otto strati di cellule appiattite e parzialmente sovrapposte le une alle altre, come le tegole di un tetto. Al di sotto si trova la corteccia che costituisce la maggior parte del capello e gli dona le sue proprietà meccaniche. Infine ecco il midollo, presente in modo discontinuo nella zona più interna dei capelli, quella più ricca di melanina che ne determina il colore.

Anatomia del cuoio capelluto.
1 - epidermide
2 - derma
3 - strato sottocutaneo
4 - follicolo pilifero
5 - bulbo pilifero
6 - ghiandola sebacea
7 - ghiandola sudoripara
8 - muscolo erettore del pelo

Struttura del capello.

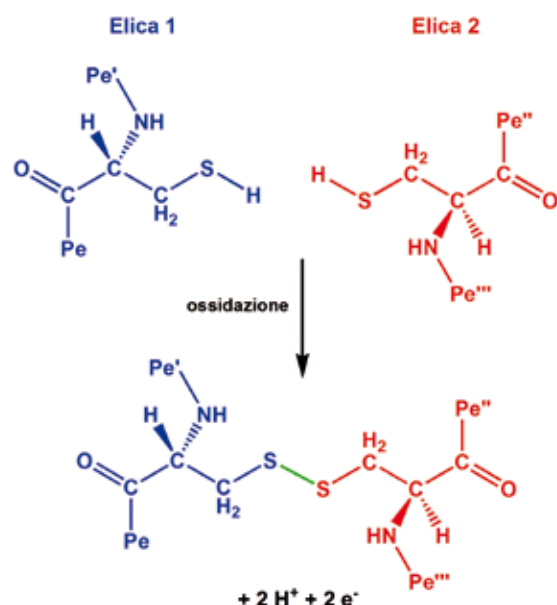
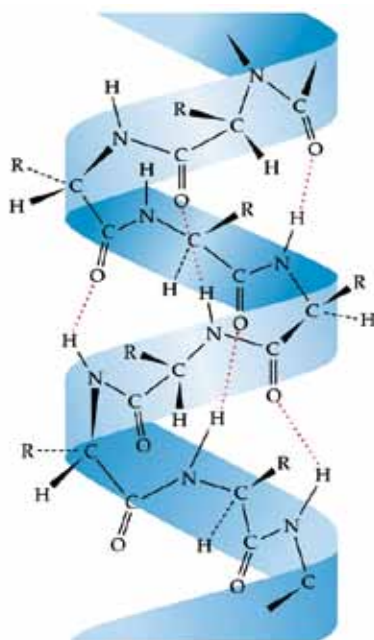
Un capello allo stereomicroscopio ottico. Sono visibili le cellule parzialmente sovrapposte della cuticola. Il diametro di un capello umano può misurare dai 17 ai 180 micrometri.

Le molecole principali che costituiscono i capelli sono la cheratina e i pigmenti, vi sono poi diversi oligoelementi allo stato atomico. La cheratina - una proteina insolubile con elevata resistenza meccanica e assai poco reattiva - rappresenta la principale componente dello strato esterno della pelle, dei capelli, delle unghie. È molto diffusa negli animali superiori (anfibi, rettili, uccelli e mammiferi), dove esiste in due forme:

- α-cheratina, tipica dei mammiferi, si trova nei peli (inclusa la lana), corna, unghie, artigli, zoccoli, aculei (es. porcospino);
- β-cheratina, tipica di rettili e uccelli dove forma becchi, scaglie, unghie e artigli, armature (come quelle delle tartarughe e delle testuggini).

L’α-cheratina costituisce la maggior parte della corteccia del capello, è una proteina fibrosa la cui unità strutturale è rappresentata da un’α-elica che conferisce flessibilità alla molecola, ma allo stesso tempo stabilità, in virtù dei ponti idrogeno presenti. Tre α-eliche si intrecciano fra loro per formare un filamento, la protofibrilla, tenuto insieme da ponti disolfuro. Tali filamenti a loro volta si avvolgono in fasci che vanno a costituire le fibre del capello.
Le unghie, le corna o gli aculei di un riccio sono composti da un’α-cheratina molto simile a quella presente nei capelli, ma decisamente più resistente: tale rigidità è dovuta ad una percentuale maggiore di cisteina, l’amminoacido che permette la formazione di legami disolfuro tra eliche adiacenti, il

La struttura primaria dell'α-cheratina è l'α-elica, una catena peptidica abbastanza flessibile che può accorciarsi e allungarsi grazie alla presenza di ponti a idrogeno al suo interno. Questo tipo di legame è meno forte di un legame covalente o ionico, si forma a causa delle interazioni tra cariche parziali di elementi legati covalentemente, positiva sull'idrogeno e negativa su di un atomo ad elevata elettronegatività, tipicamente ossigeno, azoto o fluoro.

Le caratteristiche meccaniche dell'α-cheratina, come la sua rigidità e robustezza, dipendono dalla formazione di legami disolfuro mediante ossidazione dei gruppi tiolici (–SH) di due residui di cisteina su α-eliche adiacenti. Con Pe vengono indicate le catene peptidiche che continuano l'elica nelle due direzioni.

cui numero è legato ad una maggior robustezza.
I *pigmenti* determinano il colore dei capelli. La colorazione dipende dalla quantità e dal tipo di melanina che viene prodotta: *eumelanina*, presente nei capelli neri e *feomelanina*, presente nei capelli biondi o rossi. Mescolando i due pigmenti a concentrazioni diverse si ottengono tutte le tonalità riscontrabili in natura.
L'eumelanina è una proteina ottenuta dalla trasformazione dell'aminoacido tirosina prima in dopamina e poi in dopachinone, grazie all'azione dell'enzima tirosinasi; successivamente le molecole, così formatesi, si aggregano stabilmente per formare il pigmento (la biosintesi è in realtà molto più complessa). L'attività dell'enzima è proporzionale alla produzione di eumelanina, determinando in questo modo le varie tonalità del marrone, dal più chiaro fino quello più scuro che ci appare nero. Il processo di formazione della feomelanina è molto simile al precedente, con l'unica differenza che nelle fasi finali vi è l'intervento della cisteina, la quale interagisce con il dopachinone, portando alla produzione di quest'altra molecola. Il suo colore varia dal giallo all'arancio, rispettivamente a seguito della minore o maggiore concentrazione di cisteina coinvolta nella sintesi.
L'albinismo è un'anomalia genetica ereditaria caratterizzata dall'assenza o dalla significativa riduzione della pigmentazione melanica della cute, dei peli e degli occhi. È dovuta al gene dell'enzima tirosinasi, in cui si verifica una mutazione puntiforme della sequenza del Dna che fa incorporare nella catena peptidica un aminoacido errato, cioè una cisteina anziché una serina. Ciò causa la virtuale perdita quantitativa dell'attività catalitica dell'enzima che si traduce nella mancata sintesi di melanina.

Gli ***oligoelementi*** rappresentano una componente inorganica essenziale dei sistemi proteico-enzimatici. Esiste una correlazione diretta fra la loro concentrazione nel sangue e nei capelli.

OLIGOELEMENTO	CONCENTRAZIONE (mg/g)	DISTRIBUZIONE/RUOLO
Ferro	4-12	Abbondante nei capelli rossi.
Magnesio	30-45	Abbondante nei capelli bruni.
Zinco	150-180	Indispensabile per la corretta attività delle cellule germinative della matrice, la sua carenza causa fragilità del capello.
Rame	16-50	Indispensabile nel processo di sintesi della melanina.
Piombo	10-30	Abbondante nei capelli dei castani. Dato che la quasi totalità del piombo presente nell'organismo deriva da quello esogeno e poiché il capello ne rappresenta la sede principale di accumulo, la sua misurazione a livello della parte distale del fusto viene utilizzata come bioindicatore per valutare l'inquinamento ambientale.

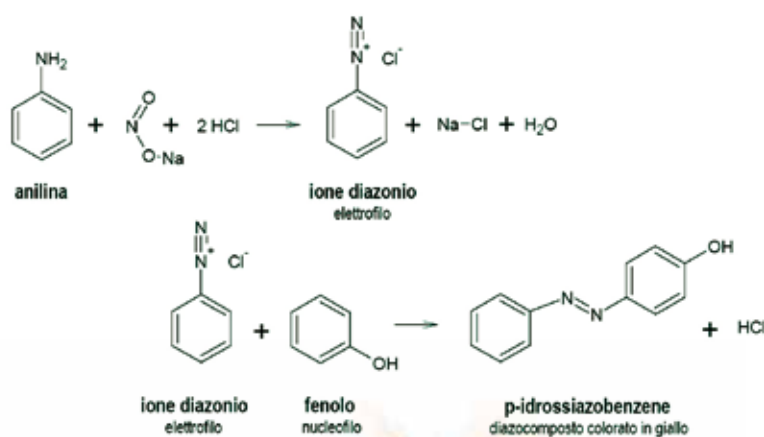
L'estinzione delle teste rosse

"Parallelamente all'aumento di migrazioni e matrimoni misti, assisteremo alla loro scomparsa" esordisce così Desmond Tobin, specialista nella ricerca sulle cellule dei capelli della Bradford University, riferendosi alle chiome rosso fuoco. Il motivo che ha determinato l'evoluzione del colore dorato o ramato costituisce ancora un mistero, tanto più che tali tonalità sono comparse in Europa "solamente" 20mila anni fa.
Soltanto il 3% delle donne sono bionde naturali e ancor più esigua è la percentuale delle rosse, appena l'1-2%. La spiegazione di tale fenomeno risiede nel gene che determina il colore dei capelli che ha ben 40 alleli (sequenze alternative di Dna), ma solo sei codificano per i capelli rossi. Inoltre, essendo un gene recessivo, un bambino, per avere i capelli di questo colore, deve ereditare due alleli ad esso associati, uno da ogni genitore. Ciò diminuisce ulteriormente le probabilità che sono un po' più elevate in popolazioni isolate, i cui antenati possedevano frequentemente una chioma fiammeggiante. Perciò i rossi sono diffusi principalmente in Scozia e Irlanda, mentre le chiome bionde lo sono nei Paesi scandinavi. Oggi, però, con l'effetto del villaggio globale anche tali nazioni sono coinvolte dall'immigrazione di massa che porterà al mescolamento delle razze e alla lenta, inesorabile, scomparsa delle teste rosse.

Le tinture: il parrucchiere diventa chimico

La prima tintura per capelli è stata formulata nei primi anni del Novecento da Franz Stròher, un affermato parrucchiere della Sassonia, fondatore della nota industria cosmetica "Wella". Negli ultimi cinquant'anni la pratica si è molto diffusa e circa il 40% delle donne la adotta regolarmente sia per nascondere la crescita dei capelli bianchi che per pura vanità o solo per la voglia di cambiare. Le stesse motivazioni spingono oggi numerosi uomini a tingersi la chioma, cosa che si può ottenere con tecniche e composti vari che vedremo brevemente di seguito.

La colorazione temporanea. Tende a modificare temporaneamente la tonalità naturale per conferire solo dei riflessi dalle tonalità diverse alla capigliatura. I composti impiegati hanno un alto peso molecolare, perciò si depositano sulla cuticola del capello senza penetrarvi e vengono eliminati dopo qualche lavaggio. Essendo una colorazione perlopiù superficiale non altera la struttura del capello e i prodotti vengono applicati come uno shampoo. A tal scopo i più utilizzati sono i coloranti azoici, rappresentati dalla formula chimica generale: Ar-N=N-Ar', dove Ar e Ar' rappresentano degli anelli aromatici. La presenza del doppio legame azoto-azoto (gruppo azo), agisce da cromoforo, conferendo colorazione al composto. Queste molecole vengono sintetizzate trattando un'ammina aromatica con acido nitroso (formato *in situ* da nitrito di sodio in ambiente acido) per dare, trami-

L'azocopulazione è una reazione di sostituzione elettrofila.

te reazione di copulazione, uno ione diazonio intermedio, specie povera di elettroni (elettrofilo), che reagisce rapidamente con un composto aromatico ricco di elettroni (nucleofilo) per dare un diazocomposto.

La colorazione semipermanente tradizionale. Le tinture utilizzate devono resistere a diversi lavaggi e poter mascherare i capelli bianchi. I coloranti più utilizzati sono molecole di medie dimensioni, anch'esse appartenenti al gruppo dei coloranti azoici. La colorazione si effettua innalzando il pH (ambiente alcalino) per favorire il sollevamento della cuticola del capello e permettere la penetrazione dei coloranti nella corteccia. Dopo di che si riporta il pH al valore fisiologico (lievemente acido), utilizzando una sostanza acidificante al fine di riabbassare la cuticola. Purtroppo, quest'ultima fase non sempre ha buon esito, nel qual caso il capello risulta danneggiato.

La colorazione permanente ossidativa. Utilizza una tecnica di colorazione durevole, basata su una reazione chimica di ossidazione che consente l'integrazione delle molecole coloranti all'interno del fusto del capello e, a differenza di quanto visto finora, permette anche di tingere i capelli con tonalità più chiare di quella di partenza. Ciò è reso possibile dall'utilizzo di molecole molto piccole che, dopo aver attraversato la cuticola, resa più permeabile mediante idratazione e alcalinizzazione, vengono ossidate per formare composti colorati. Il meccanismo può essere suddiviso in due fasi:

- applicazione dell'acqua ossigenata in ambiente alcalino (pH = 9);
- applicazione del sistema cromogeno, esso è costituito da una molecola incolore (in genere si tratta di un'ammina para sostituita) e da un copulante (di solito rappresentato da un aminofenolo) che modifica il colore primario.

Si può dire che la reazione di azocopulazione, descritta precedentemente, avviene all'interno del capello a differenza delle tintura temporanea in cui l'azocomposto è già pronto all'uso, ma la molecola è di dimensioni troppo grandi per penetrare a fondo attraverso la cuticola. Questa colorazione provoca un cambiamento chimico e fisico della struttura del capello, il quale rimane danneggiato, con la cuticola parzialmente sollevata.

La decolorazione. I decoloranti servono per schiarire più o meno intensamente il colore dei capelli, si può passare, per esempio, dal castano al biondo platino, oppure la procedura può essere effettuata prima di tingerli con un altro colore. Infatti, non sempre si può passare direttamente da un colore all'altro, soprattutto da uno scuro ad uno più chiaro.

Si tratta di un procedimento molto aggressivo per la struttura del capello, visto che è necessario alterare chimicamente la melanina. Si riduce la quantità naturale del pigmento dapprima ossidandolo, poi depolimerizzandolo fino ad avere molecole solubili che vengono lavate via dal capello. Non sempre si ottengono i risultati desiderati, infatti bisogna considerare che, in realtà, la melanina è presente in due forme: l'eumelanina, di colore nero, e la feomelanina, di colore rosso/dorato. Con la decolorazione la prima viene ossidata più facilmente e per questo di frequente, se il trattamento non è effettuato bene, i capelli decolorati assumono un colorito rossastro. In tali casi abbiamo che l'eumelanina è stata completamente ossidata, ma la feomelanina, che si trova nello strato più interno, è ancora presente; perciò sarà necessario ripetere più volte il procedimento. Affinché la sostanza ossidante raggiunga l'interno del capello e reagisca con la melanina è necessario che passi attraverso la cuticola, perciò è indispensabile sollevarne le squame mediante alcalinizzazione.

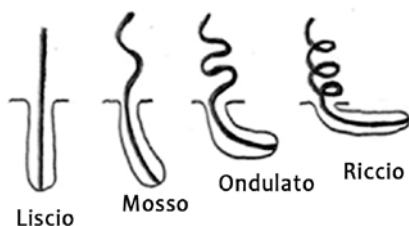
La decolorazione distrugge circa la metà dei ponti disolfuro che uniscono le fibre di cheratina e, di conseguenza, la resistenza del capello si riduce del 50%.

Questa tecnica richiede sempre la miscelazione di almeno tre prodotti al momento dell'impiego:

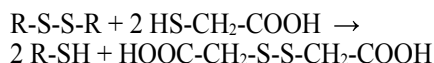
Schema della colorazione permanente ossidativa.

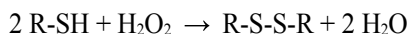
- una polvere a base di persolfati, ad esempio sodio persolfato ($Na_2S_2O_8$), addizionata con agenti alcalini;
- acqua ossigenata (H_2O_2);
- un olio o una crema, contenenti ammonio idrossido (NH_4OH).

Cambiare l'aspetto dei capelli

Nelle persone di colore i capelli hanno una sezione trasversale appiattita, gli asiatici l'hanno perfettamente circolare e i caucasici di forma intermedia. Ciò determina rispettivamente l'aspetto riccioluto, liscio e ondulato della loro chioma. I fenomeni migratori hanno favorito lo scambio genetico fra le varie popolazioni e, pertanto, ora troviamo anche capigliature con caratteristiche intermedie, anche in uno stesso soggetto si possono trovare capelli di forma un po' diversa.
La forma della sezione dei capelli dipende da quella della cavità del bulbo dal quale originano: se è cilindrica il capello cresce diritto, dato che la proliferazione delle cellule della matrice è uguale in ogni punto, se invece risulta più o meno schiacciata, la proliferazione cellulare avviene in modo non uniforme e il pelo cresce via via più ondulato fino a diventare decisamente riccio.

La forma del capello (riccio, liscio o ondulato) dipende dalla conformazione del bulbo.

Un altro modo di affermare la propria personalità, cambiando l'aspetto della propria capigliatura, è quello di variare il tipo di capelli. Le permanenti hanno lo scopo di far diventare ondulati quelli lisci, grazie ad un'alterazione chimica della cheratina. Il processo può essere diviso in tre fasi. Inizialmente i ponti disolfuro della cheratina vengono ridotti a gruppi tiolici da acidi organici, come l'acido tioglicolico (HS-CH_2-COOH), secondo la reazione di ossidoriduzione:

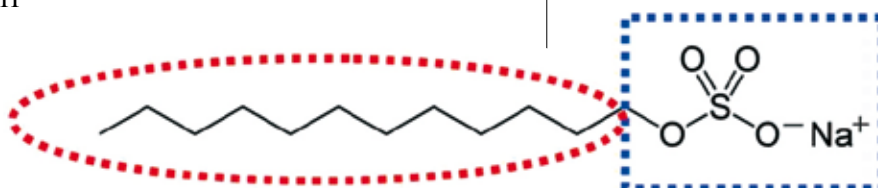
$$R\text{-}S\text{-}S\text{-}R + 2\ HS\text{-}CH_2\text{-}COOH \rightarrow 2\ R\text{-}SH + HOOC\text{-}CH_2\text{-}S\text{-}S\text{-}CH_2\text{-}COOH$$

dove R rappresenta le catene peptidiche della cheratina.
Allo stato ridotto la cheratina diviene più plastica, più "malleabile", in grado di essere deformata. Pertanto a questo punto si avvolgono le ciocche dei capelli sui bigodini per un periodo variabile che va dai 10 ai 45 minuti. La messa in piega consente lo scorrimento delle catene delle α-eliche. A questo punto la cheratina viene fissata mediante agenti ossidanti, come l'acqua ossigenata (H_2O_2), che ristabilisce i ponti disolfurici secondo la reazione:

$$2\ R\text{-}SH + H_2O_2 \rightarrow R\text{-}S\text{-}S\text{-}R + 2\ H_2O$$

Infine le catene parallele della cheratina si trovano nuovamente unite covalentemente, ma in punti sfalsati, ciò crea una forza torsionale che arriccia il capello. Ovviamente questa procedura se applicata in maniera scorretta può danneggiare significativamente il capello, alterandone la struttura.
Si potrà intuire come un simile processo possa essere usato per la lisciatura chimica, la fase iniziale e quella finale sono in pratica identiche, mentre varia la fase intermedia: anziché essere messi in piega, i capelli verranno ripetutamente pettinati e lisciati.

Capelli e slogan

Nutrire i capelli, rafforzare le radici, combattere la calvizie. Questi sono solo alcuni dei messaggi pubblicitari, dei quali spesso non c'è da fidarsi, che affollano i media. I cosmetici - shampoo, balsami, creme, lozioni e così via - non possono in alcun modo far ricrescere dei capelli o agire sulla loro vitalità, non hanno un effetto farmacologico in tal senso. Sono, però, certamente utili per la loro igiene ottimale e per renderli soffici, voluminosi e pettinabili. A titolo di esempio vediamo come agisce il cosmetico che sicuramente tutti usiamo, lo shampoo. L'agente pulente è rappresentato da diversi tipi di tensioattivi, usati alternativamente o in opportune combinazioni. Si tratta di molecole *anfifiliche* (anfipatiche), cioè possiedono contemporaneamente residui idrofilici (polari) e idrofobici (lipofilici, non polari):

- una *catena idrocarburica* liposolubile è in grado di solubilizzare lo sporco grasso e il sebo;
- una *testa polare* che, al contrario, è idrosolubile e permette al tensioattivo

Schema della struttura di uno dei tensioattivi più comuni, il sodio-lauril-solfato. La catena idrocarburica idrofobica è indicata in rosso, il solfato, idrofilico, in blu.

Tensioattivo	Caratteristiche	Vantaggi	Svantaggi	Esempi
Anionico	La parte idrofila è carica negativamente	Poco costosi, buon potere detergente e schiumogeno, poco irritanti per gli occhi	Molto aggressivi nei confronti della cheratina	Sali di sodio, di ammonio o di trietanolammina
Cationico	La parte idrofila è carica positivamente	Hanno un'azione batteriostatica e micostatica, hanno affinità per la cheratina, facilitano lo sbrogliamento dei capelli intrecciati	Scarso potere detergente e schiumogeno, sono irritanti per gli occhi	Sali amminici e sali dell'ammonio quaternario
Anfotero	Struttura bipolare che varia in funzione del pH con formazione di anioni in ambiente basico e di cationi in ambiente acido	Buon potere detergente, poco aggressivi	Abbastanza costosi, poco schiumogeni	Betaine, derivati dell'imidazolina, aminoacidi N-alchilici
Non ionico	Non hanno carica, è la ripetizione dei gruppi "ossietilene" che esercita la funzione solubilizzante nell'acqua (invece delle teste polari).	Buona capacità detergente, eccellente tollerabilità (sono considerati i più dolci tra i tensioattivi)	Abbastanza costosi, scarso potere schiumogeno	Tweens (esteri poliossietilenici di sorbitolo), eteri di poligliceroli, alcanolammine, saponine naturali di origine vegetale

di solubilizzarsi nell'acqua trascinandovi lo "sporco" che si è legato alla catena idrofobica.

In ambiente acquoso, le molecole che hanno parti polari e parti non polari formano degli aggregati a forma di sfera, detti *micelle*. In tali strutture le parti polari si trovano nella zona più esterna, quella a contatto con l'acqua, mentre le parti non polari sono situate all'interno. Due sono i fattori che concorrono alla loro formazione quando i tensioattivi vengono sciolti in acqua:

- le code idrofobiche tendono ad evitare il contatto con l'acqua, perciò puntano verso l'interno dell'aggregato;
- le teste idrofiliche, invece, si solubilizzano nell'acqua e, pertanto, si dispongono spontaneamente verso l'esterno.

Struttura tridimensionale di una micella. Nella sezione le teste polari sono rappresentate in grigio, le code idrofobiche in blu.

Le micelle formate dallo shampoo trasporteranno al loro interno lo sporco e il sebo che interagiscono con la loro porzione idrofoba, mentre possono essere solubilizzate e, quindi, lavate via, grazie alla porzione idrofilica.

Gli shampoo curativi sono addizionati con molecole che hanno un'azione farmacologica riconosciuta. Uno degli esempi più classici riguarda quelli che combattono la forfora, causata da una proliferazione eccessiva della flora microbica del cuoio capelluto. La loro efficacia si deve all'attività battericida e antimicotica e al potere pulente, senza essere eccessivamente aggressivi: devono eliminare la forfora senza aggravare l'irritazione dell'epidermide. A tal scopo questo tipo di shampoo può essere addizionato con i seguenti composti:

- catrami, come l’olio di cade (catrame di legno di ginepro), o catrame di carbone fossile che vengono utilizzati contro la psoriasi e la forfora del cuoio capelluto, in quanto hanno una certa efficacia cheratolitica e antipruriginosa;
- ammidi dell’acido undecilenico, sali di zinco o derivati di piridin tione.

Per quanto riguarda gli shampoo antiseborroici, essi possono essere classificati in due categorie:
- legno di Panama, detergente non ionico dolce, possono essere utilizzati dai soggetti aventi cuoio capelluto grasso; sono noti per non danneggiare la cheratina e non provocare seborrea reattiva, tuttavia, essendo poco schiumogeni non sono ben accetti da parte dell’utente;
- agenti che tendono a rallentare la secrezione sebacea, solitamente derivati dello zolfo.

Cosmetica, ricerca e salute

I composti chimici presenti nelle tinture provocano frequentemente reazioni allergiche che si manifestano con prurito, arrossamento, comparsa di vescicole, croste e desquamazione. Tra le molecole incriminate troviamo la parafenilendiammina, la paratoluendiammina e il resorcinolo, che, oltre a causare le reazioni appena menzionate, provocano anche altri effetti collaterali, quali edema del viso, delle palpebre, della testa e delle orecchie. Purtroppo questa è solo la punta dell’iceberg, infatti, numerosi studi mettono in evidenza l’aumentata incidenza di alcune forme di cancro negli utilizzatori di tinture per capelli e nelle categorie professionali esposte. Tale relazione non è emersa durante le sperimentazioni sugli animali eseguite diversi anni fa, ma studi più recenti ne hanno messo nuovamente in dubbio l’innocuità.
Una ricerca condotta a Los Angeles, pubblicata nel 2001 sulla rivista *International Journal of Cancer,* ha riaperto la discussione sul legame tra tumore e componenti delle tinture. I ricercatori hanno osservato un gruppo di pazienti di età compresa tra i 25 e i 64 anni, affetti da cancro alla vescica. Lo studio ha permesso di identificare l’uso delle tinture per capelli come fattore di rischio nello sviluppo della malattia. È stata anche analizzata la relazione con l’esposizione professionale, evidenziando che diversi soggetti, precedentemente impiegati presso un negozio di parrucchiere, presentavano un rischio maggiore del 50% d’insorgenza di cancro, tale valore si decuplica per coloro che hanno manipolato queste sostanze per 10 anni o più. Non è ancora noto l’esatto meccanismo che causa l’insorgere della patologia, si ipotizza che le ammine aromatiche (in particolare la parafenildiammina) possano provocare mutazioni genetiche.
All’inizio del 2004 è stato lanciato dalla *Food and Drug Admistration* statunitense un allarme legato all’utilizzo delle tinture permanenti per capelli, secondo i risultati di uno studio effettuato dal 1996 al 2002 dalla *Yale School of Medicines* e dall’Istituto Europeo di Oncologia e pubblicato sull’*American Journal of Epidemiology:* le tinture aumenterebbero il rischio di contrarre il linfoma non-Hodgkin, un tumore maligno del sistema linfatico. L’indagine è stata condotta su 1.300 donne con età compresa tra 21 e 84 anni che non avevano mai contratto il cancro; i risultati mostrano che il rischio di malattia aumenta nelle pazienti solite a tingersi i capelli già prima del 1980.
Recentemente il *Comitato scientifico per la sicurezza dei consumatori* ha stabilito che le informazioni su tali sostanze sono poco aggiornate e ancora insufficienti, pertanto ha richiesto ulteriori indagini per poter definire nuovi limiti di esposizione e confermare o meno la loro sicurezza.
La ricerca in ambito cosmetico sta investendo molto sullo studio di formulazioni che risultino sempre meno aggressive nei confronti della pelle e del cuoio capelluto, creando molecole sempre più bio ed eco-compatibili.

Tiziana Bernello
Chimico e tecnologo farmaceutico

Analisi cliniche, controllo degli alimenti, monitoraggio ambientale, archeometria e scienza dei materiali

Nuovi biosensori
per la chimica analitica

di Luigi Campanella e Fulvio Zecchini

Negli ultimi anni i metodi separativi hanno assunto un'enorme importanza nella chimica analitica. Tuttavia la loro applicazione richiede in genere tempi relativamente lunghi e costi non indifferenti. Il chimico analitico è perciò costantemente alla ricerca di tecniche di laboratorio innovative che permettano di ottenere risultati affidabili in modo rapido e preciso. Tra questi troviamo i biosensori di cui descriviamo, in questo articolo, alcune delle più innovative e interessanti applicazioni.

La sensoristica nel laboratorio di chimica analitica

I sensori e i biosensori, soprattutto quelli di tipo elettrochimico, risultano particolarmente adatti alla risoluzione di problemi di chimica analitica di vario tipo, concernenti numerose matrici, che si presentano sempre più frequentemente nella nostra quotidianità. Con questo tipo di dispositivi è infatti possibile testare parecchi tipi di campioni biologici per diversi parametri. Inoltre, particolari "indicatori chimici" ci permettono di monitorare alcuni processi biochimici correlati con la salute di animali e vegetali o con lo stato di conservazione di alcuni alimenti e altri prodotti deperibili. Con il termine "sensore" si indica comunemente un dispositivo che è in grado di misurare una quantità fisica o chimica e di convertirla in un segnale facilmente leggibile da un operatore o da uno strumento. Per garantire l'accuratezza della misura vengono tarati su appositi campioni standard a valore noto. Ad esempio, i vecchi termometri a mercurio, ora fuori mercato, trasformavano la temperatura nell'espansione termica del curioso metallo liquido in un capillare con una scala graduata di conversione che ci permetteva di leggere direttamente la temperatura.
Allo stato attuale, la ricerca è caratterizzata soprattutto da una grande vivacità e da un forte interesse nello sviluppo di nuovi tipi di sensore a stato solido, uno dei quali curiosamente basato sull'*ilmenite*, un minerale (ossido di titanio e ferro, $FeTiO_3$) che è presente anche nelle rocce lunari, il quale potrebbe trovare applicazione nella misura e controllo dell'inquinamento del nostro satellite conseguente alle missioni aerospaziali. Non deve però essere dimenticato il grande numero di classici sensori a vetro, o a membrana solida, liquida, polimerica, o a diffusione gassosa: cioè gli ISE *(Ion-Selective Electrodes)*, molti dei quali sono disponibili in commercio da diversi anni e risultano, quindi, ben collaudati. Con essi è possibile effettuare un gran numero di determinazioni, su numerosi substrati alimentari, farmaceutici e ambientali.
Passando all'argomento centrale di questo articolo, va in primo luogo osservato che, se l'impiego di microrganismi e di enzimi nell'ambito dei processi di produzione - sia alimentare che farmaceutica - costituisce ormai da anni una realtà in continuo sviluppo, l'uso di biosensori, cioè di sistemi biologici, in campo analitico risulta più recente e le applicazioni più frequenti sono quelle dei test enzimatici in biochimica clinica. In quest'ambito le metodologie associate alla rivelazione spettrofotometrica sono ormai numerosissime, ben codificate e facilmente reperibili, tanto è vero che sono in commercio kit affidabili utilizzabili per diversi tipi di analisi, anche per autovalutazioni "fai da te". Va infatti ricordato che il primo utilizzo di un biosensore a livello commerciale è stato quello per l'autocontrollo della glicemia da parte dei diabetici che sfrutta l'enzima glucosio-ossidasi.

I biosensori

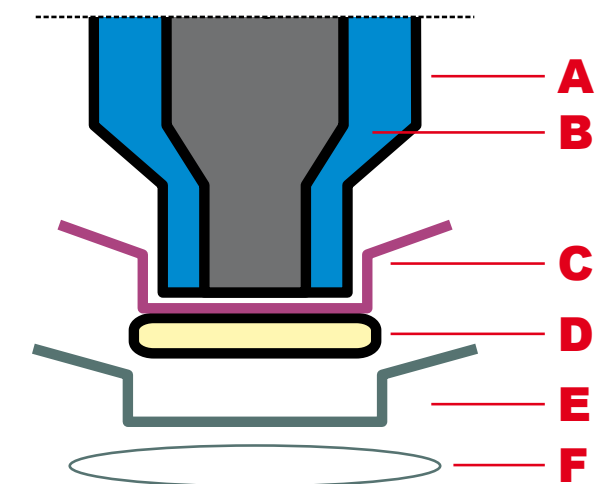
Lo sviluppo dei metodi di immobilizzazione degli enzimi ha permesso di costruire, negli ultimi anni, un buon numero di biosensori; tra i più innovativi troviamo i *microbial sensor*, i *tissue sensor,* i *cell sensor* e altri ancora, che sfruttano la rivelazione elettrochimica (amperometrica o potenziometrica). Anche in questo caso, le prime e più diffuse applicazioni si trovano nel settore chimico-clinico, ma negli ultimi tempi lo sviluppo di biosensori con possibilità d'impiego nei controlli dell'industria alimentare e farmaceutica ha destato notevole interesse. Ad esempio, nel campo dei test chimici sugli alimenti, i biosensori possono essere impiegati per diversi scopi, alcuni dei quali sono riportati di seguito.

1. Analizzare parametri che devono essere determinati in tempo reale per il controllo di filiera con elevata sensibilità e specificità, ma anche con rapidità ed economicità; un simile approccio comincia ad essere usato anche nella farmaceutica.
2. Determinare sostanze chimiche che fungano da indicatori, ad esempio di contaminazione microbica o di deterioramento (ossidazione ecc.). In tal modo si può verificare lo stato di freschezza e la corretta conservazione in determinate condizioni, per periodi di tempo più o meno lunghi, sia degli alimenti che di farmaci e vaccini.
3. Rivelare la presenza di tracce di composti chimici contaminanti, di tossine, oppure di additivi e conservanti vari.
4. Fungere da rivelatori di processi cromatografici.

Un campione di ilmenite proveniente dalla città di Froland nel sud della Norvegia.
[Immagine: Rob Lavinsky, iRocks.com, 2010, Wikipedia Commons]

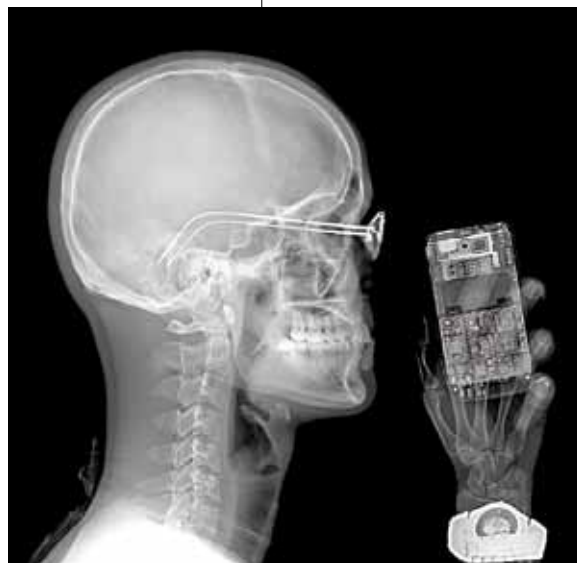
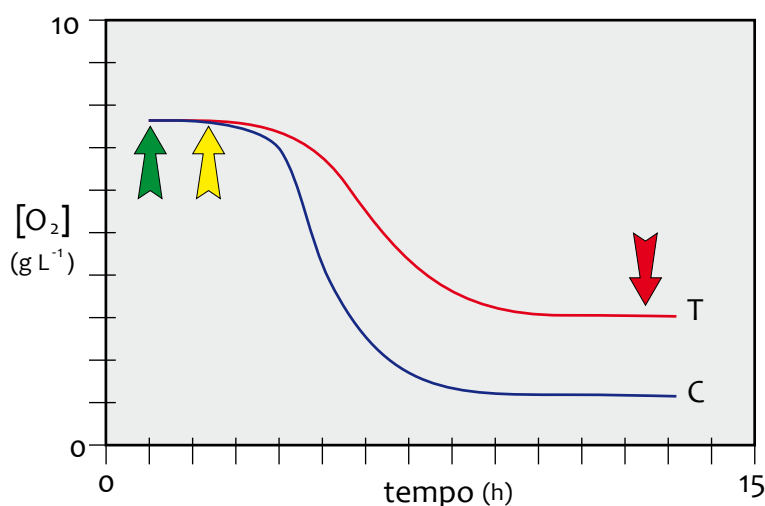
Numerosissime sono anche le applicazioni in campo ambientale per la determinazione di pesticidi, idrocarburi, gas tossici. In molti casi, il limite di rilevabilità della concentrazione tipico del biosensore deve essere abbassato; se la rivelazione avviene mediante trasduzione elettrica, ciò si può ottenere grazie all'accoppiamento con amplificatori elettronici del tipo MOS-FET (*metal-oxide-semiconductor field-effect transistor*, cioè transistor metallo-ossido-semiconduttore a effetto di campo).
Ennesimo settore della biosensoristica in rapidissima espansione è quello degli immunosensori, non solo quelli basati su trasduttori elettrochimici, ma anche su trasduttori ottici, piezoelettrici, termici. Le limitazioni attuali in questo campo sono costituite dai tempi di analisi, a volte non sufficientemente brevi, ma soprattutto dalla possibilità di impiego limitata a un solo test. Lo sforzo della ricerca va, quindi, sia nella direzione della riutilizzabilità per numerosi saggi che in quella del monouso a basso costo (usa e getta); ciò permetterà a queste tecnologie di diventare competitive per l'uso di massa per numerose potenziali applicazioni.

I biosensori respirometrici

È possibile valutare le conseguenze di una perturbazione chimica o fisica dei processi metabolici coinvolti nella respirazione cellulare in quanto, generalmente, vi si accompagna una variazione del consumo di ossigeno da parte delle cellule utilizzate nel test (solitamente di lievito), che è possibile misurare con un apposito sensore: l'elettrodo di Clark. Solitamente l'utilizzo di O_2 aumenta, rispetto ad un campione di controllo non "perturbato", in caso di effetto positivo - ad esempio l'aggiunta di un nutriente - e diminuisce in quello contrario, come l'aggiunta di un composto tossico, l'esposizione a radiazioni ecc.
Ad esempio, tale sistema è stato usato nel monitoraggio dell'inquinamento elettromagnetico della telefonia cellulare. Con questo tipo di biosensore è, infatti, possibile valutare l'inibizione (e la relativa reversibilità) dell'attività respiratoria delle cellule di lievito esposte, per 24 e 48 ore, in un simulatore di radiofrequenze (camera anecoica G-TEM) che riproduce una situazione di esposizione ai campi elettromagnetici di frequenza pari a quella dei telefoni cellulari di prima generazione: 900 MHz, 120 V/m. Anche grazie a questi studi, pochi mesi fa l'Oms, l'Organizzazione mondiale della sanità, ha emesso un comunicato in cui classifica l'uso del cellulare fra le possibili cause di cancro; ciò non è però ancora certo, anzi i vari esperti non concordano su questo tema e sono necessarie ulteriori ricerche, soprattutto indirizzate verso la possibile sinergia fra i campi prodotti dai cellulari e altre perturbazioni.
Un'altra applicazione dei biosensori respirometrici a cellule di lievito è il monitoraggio delle acque, si può misurare, la tossicità di quelle naturali contaminate con sostanze xenobiotiche quali:

- ioni metallici (Cd^{2+}, Cr^{3+}, Pb^{2+}, Cu^{2+}, Hg^{2+}), sia da soli che in pool;
- derivati aromatici (fenolo, 2,4-dinitrofenolo);
- tensioattivi cationici o anionici;
- residui di degradazione di farmaci.

Ancora, con questo sistema si possono misurare anche i livelli di radon (simbolo: Rn), un gas nobile naturale radioattivo, inodore e incolore che risulta essere un contaminante assai subdolo, ritrovato soprattutto in ambienti *indoor*, le cui sorgenti principali sono: il suolo, i materiali da costruzione e l'aria esterna. Esponendo le cellule di lievito a dosi crescenti del gas si può monitorare il livello di contaminazione, misurando l'inibizione della loro attività respiratoria che risulta proporzionale all'intensità dell'esposizione.

Schema del terminale dell'elettrodo di Clark.
A: cappuccio dell'elettrodo
B: soluzione interna
C: membrana permeabile ai gas
D: dischetto con cellule di lievito immobilizzate prelevate da una colonia cresciuta su terreno solido
E + F: supporti per l'ancoraggio del dischetto D

A fine maggio scorso l'Oms ha indicato l'uso del cellulare tra le possibili cause di cancro, ma servono ulteriori conferme a questi studi.

Confronto tra curve respirometriche. Ipotizziamo di avere due contenitori con campioni identici di acqua di fiume (T e C) in cui misuriamo la concentrazione di ossigeno con l'elettrodo di Clarck a temperatura costante (20 °C). All'inizio del test nei due (freccia verde, fase stazionaria) il consumo di O_2, dovuto ai microrganismi e ai nutrienti presenti naturalmente, sarà uguale. Aggiungiamo solo al campione T (test) un piccolo volume di soluzione acquosa sterile di un composto xenobiotico, mentre nel C (controllo) aggiungiamo un ugual quantitativo di acqua distillata sterile (freccia gialla). Dalle misurazioni ottenute la molecola addizionata risulta tossica, il biosensore lo rileva come consumo di ossigeno inferiore nel test (T) rispetto al controllo (C) con una differenza massima nella fase stazionaria finale (freccia rossa).

Biosensori e archeometria

I biosensori hanno trovato applicazione anche in settori non tradizionali, come quello del monitoraggio ambientale; ne sono tipici esempi l'archeometria, già trattata sugli ultimi due numeri di *Green*, e la scienza dei materiali. Accenniamo brevemente a quest'ultimo utilizzo, per poi dilungarci un po' di più sul primo. È stato dimostrato che alcune forme di affaticamento dei materiali sono dovute all'ossidazione chimica, la quale può essere rilevata con un biosensore capace di misurare la formazione e la concentrazione di gruppi funzionali ossidati o con un sensore chimico basato sul potenziale di ossido-riduzione.

Maggior curiosità desterà forse nel lettore l'uso dei biosensori in archeometria. Da sempre il passato con i suoi misteri, i suoi segreti e le sue curiosità è stato oggetto di numerose indagini. Certo, subito dopo la nascita e i primi usi dei biosensori, pochi immaginavano che essi avrebbero potuto essere utilizzati come metodi di datazione. Le prime applicazioni in tal senso hanno avuto come oggetto di ricerca materiali inorganici, tra cui manufatti in ceramica o in metallo, arrivati sino a noi in quantità più abbondanti. Solo negli ultimi anni nel laboratorio di chimica analitica si è cominciato ad esaminare anche i materiali organici e gli oggetti con essi realizzati. In precedenza essi venivano ignorati, soprattutto a causa della rarità dei ritrovamenti nei siti archeologici e delle piccole quantità solitamente rinvenute, a seguito della loro maggior deperibilità.

L'incidenza delle condizioni ambientali, le esigue dimensioni e la fragilità dei campioni di materiale cellulosico comportano necessariamente l'uso di tecniche analitiche non distruttive che richiedano quantità di campione dell'ordine dei milligrammi. A tal fine è stato realizzato un opportuno biosensore preciso, relativamente accurato, maneggevole e di costo limitato che permette, tra l'altro, la datazione del campione. Si parte dal presupposto che tanto più un campione è antico, tanto maggiore è la quantità di CO_2 fissata dai microrganismi fotosintetici presenti nell'ambiente circostante, pertanto più elevata sarà anche la quantità di gruppi carbossilici (-COOH) presenti nel campione ai quali uno specifico enzima può legarsi chimicamente con il legame NH_2-COOH.

In presenza del substrato, il segnale relativo alla reazione enzimatica sarà proporzionale all'età del campione. Ad esempio, volendo verificare l'attività della glucosio-ossidasi sul glucosio, potremo misurare il consumo di ossigeno dovuto all'ossidazione del glucosio ad acido gluconico, che rappresenterà il segnale letto da un opportuno rivelatore. Nel caso del nostro biosensore a glucosio-ossidasi quest'ultimo è rappresentato dal trasduttore, un elettrodo amperometrico a diffusione gassosa per la determinazione dell'ossigeno. Esso è già stato utilizzato con successo per studi comparativi su campioni di carta prodotta in Russia tra il XVIII e il XX secolo e su esemplari della stessa provenienza con età incognita. Con questo metodo sono stati anche analizzati frammenti di cuoio prelevati dagli arredi del Cremlino di Mosca, legno antico del XII-XVIII secolo di essenze diverse (ciliegio, pino, noce, ulivo, castagno) e tele di dipinti del XIII secolo. In quest'ultimo caso sono state testate anche le diverse modalità d'invecchiamento a seconda della posizione di prelievo del campione.

Le classiche tecniche di analisi portano a buoni risultati, ma solitamente hanno come conseguenza la distruzione dei campioni; molte di esse risultano laboriose e richiedono una potente e costosa strumentazione. Al contrario, con l'uso del suddetto biosensore si evita la distruzione del reperto, applicando un metodo assai semplice che necessita soltanto di un potenziometro. A questo si deve aggiungere il vantaggio del basso costo e della possibilità di eseguire l'analisi anche fuori dal laboratorio, *in situ*, vista la portabilità di tutto il sistema di misura. Il dispositivo a glucosio-ossidasi mostra diversa sensibilità a seconda della composizione del materiale, perciò è essenziale che i campioni di riferimento per la calibrazione abbiano una composizione il più simile possibile a quella del campione.

Diffusione sul mercato

La sensoristica non rappresenta ancora una significativa fetta del mercato dei prodotti da laboratorio, le ditte che se ne occupano sono relativamente poche, sono dedite quasi esclusivamente alla produzione e, soprattutto, alla commercializzazione di biosensori. A queste vanno aggiunti alcuni importanti centri di ricerca e sviluppo in Inghilterra, Stati Uniti, Germania, Francia e Giappone che, oltre a idearli, li realizzano su richiesta, con una produttività generalmente limitata. Sono attualmente acquistabili sensori che determinano diversi analiti: glucosio, lattosio, saccarosio, lattato (acido lattico), glutammato (acido glutammico) e altri amminoacidi, etanolo, metanolo, colesterolo, trigliceridi, fosfolipidi, adenosin trifosfato (ATP, la cui degradazione viene attualmente utilizzata come indice della freschezza del pesce).

La scarsa diffusione a livello industriale dei biosensori pare essere parzialmente dovuta al fatto che gli attuali criteri di controllo di qualità si basano sulla determinazione non di un singolo analita, ma di parecchi di essi contemporaneamente, spesso accompagnata dal monitoraggio simultaneo di alcuni parametri chimico-fisici. Diversamente, i biosensori, data la loro elevata specificità, sono generalmente in grado di determinare un singolo analita, anche se in maniera molto rapida e diretta. Per questo motivo la ricerca in questo campo si sta orientando, verso lo sviluppo di *microarray* (vedi di seguito) spesso accoppiati alla *flow injection analysis* (FIA, analisi a iniezione in flusso) che permette il monitoraggio di più parametri in parallelo. Nella FIA aliquote dei diversi campioni da testare vengono iniettate in un flusso di trasporto fino a raggiungere un detector (nel nostro caso il biosensore accoppiato ad un sistema di rivelazione) che misura l'indice desiderato in maniera completamente automatizzata.

Da questo punto di vista, nonostante la loro selettività sia a volte insoddisfacente o, in un certo senso proprio per questo motivo, tornano ad assumere una notevole importanza anche i tanti ISE *(Ion-Selective Electrodes)*, sviluppati soprattutto negli anni passati, oppure i più moderni ISFET (*Ion-Sensitive Field-Effect Transistor,* transistor ione-selettivo a effetto di campo) e CHEMFET (*Chemical Field-Effect Transistor*, transistor chimico a effetto di campo), data la grande facilità di miniaturizzazione, la robustezza, il basso prezzo, il lungo tempo di vita e soprattutto la loro ottima possibilità di impiego nelle analisi in FIA, o addirittura nella "rivelazione" cromatografica. D'altra parte lo sviluppo di *microarray*, combinazioni "a scacchiera" di biosensori o di sensori elettrochimici miniaturizzati è ormai favorito dalla possibilità di acquisizione ed elaborazione dei segnali mediante computer e metodi di *pattern recognition,* cioè di riconoscimento computerizzato di uno schema ricorrente di valori, un profilo che caratterizza l'oggetto d'indagine come fosse una sorta di "carta d'identità". Queste tecniche stanno favorendo lo sviluppo dei cosiddetti nasi e lingue elettronici: diviene fondamentale non la specificità della singola risposta, obiettivo perseguito per moltissimi anni dagli analisti, ma - all'opposto - un'impronta di segnale con il più significativo input di messaggi possibile, la cui lettura e interpretazione è affidata alla collaborazione fra chimici, fisici e informatici.

Luigi Campanella
Dipartimento di Chimica
Università "La Sapienza" di Roma

Fulvio Zecchini
Consorzio INCA

Il legno antico di diverse essenze, al pari di altri materiali a matrice cellulosica (e dei manufatti con essi realizzati), può essere datato con specifici biosensori.

Il naso elettronico di ultima generazione sviluppato dal Jet Propulsion Laboratory della Nasa. Lo strumento vero e proprio, qui di colore grigio, è lungo circa 15 centimetri (peso: 840 g) e viene inserito in una custodia protettiva che funge da pannello di controllo e interfaccia dati. È stato testato per più di sette mesi (2008-2009) sulla Iss, la Stazione spaziale internazionale, per il controllo dell'atmosfera a bordo tramite "pattern recognition" dei dati forniti da 32 sensori semi-selettivi.
[Immagine: JPL-Nasa]

Sistemi nanotecnologici a basso impatto ambientale per la pulitura selettiva di dipinti antichi

Chimica e nanotech il restauro sostenibile

di Emiliano Carretti, Piero Baglioni e Luigi Dei

I chimici moderni sono impegnati sempre di più nella tutela dell'ambiente, della salute e del nostro patrimonio artistico e culturale. Descriveremo di seguito i principali risultati delle ricerche svolte negli ultimi anni nel settore dei sistemi nanotecnologici utilizzabili per la pulitura di dipinti su tela e tavola, sostenibili grazie al loro basso impatto ambientale e al rispetto dell'integrità del manufatto originale.
I metodi riportati si basano sull'uso di dispersioni polimeriche ad alta viscosità (gel) a base di polivinilalcol, acqua, borace e solventi organici scelti fra quelli comunemente impiegati per la rimozione dei materiali esogeni presenti sulla superficie dei dipinti.

La pulitura dei dipinti

Un dipinto su tela o tavola solitamente è caratterizzato da una struttura a strati. Al di sopra dello strato pittorico nel tempo possono accumularsi diversi composti esogeni, come depositi di particolato atmosferico o materiali applicati in precedenti interventi di restauro: vernici protettive, patine e ridipinture. La pulitura consiste nella rimozione graduale e altamente selettiva di tutto ciò che non appartiene all'opera originaria e potrebbe essere potenzialmente nocivo per la vita del dipinto o alterarne l'estetica e, quindi, il messaggio espressivo.
Si tratta di un intervento che solitamente interessa lo strato più esterno - interfase di separazione tra l'opera e l'ambiente - invasivo e irreversibile, che pertanto deve essere rigorosamente meditato. Infatti, come indicato da Cesare Brandi nel suo saggio «Teoria del restauro», non tutti i materiali estranei all'opera originaria devono essere necessariamente asportati, in particolare la conservazione delle patine, cioè quelle velature che il tempo sovrappone alla materia dell'opera, "non solo è ammissibile ma tassativamente richiesta" sia per ragioni storiche, che per esigenze di carattere estetico.
I metodi di pulitura più comunemente utilizzati si possono distinguere in base alla loro natura in:

- *metodi meccanici*, permettono la rimozione diretta dei materiali estranei al manufatto originario tramite l'uso di utensili opportuni (bisturi ecc.); tali sistemi hanno lo svantaggio di essere difficilmente controllabili, richiedono tempi molto lunghi e una grande abilità manuale dell'operatore;
- *metodi chimico-fisici,* permettono la solubilizzazione o favoriscono l'ammorbidimento delle sostanze estranee all'opera originaria per mezzo di acqua, soluzioni acquose specifiche (tamponi, chelanti) o solventi;
- *metodi basati sull'uso di luce laser* per la rimozione di rivestimenti superficiali molto tenaci;
- *metodi biochimici* basati sull'impiego di enzimi, altamente selettivi per rimuovere principalmente sostanze di natura proteica o lipidica.

Negli ultimi decenni, soprattutto i solventi organici hanno avuto una grande diffusione come strumenti per la pulitura dei dipinti su tela e tavola, grazie ai numerosi vantaggi connessi con il loro impiego:

- efficacia e rapidità nella solubilizzazione di sostanze superficiali di natura organica da parte di solventi puri o di loro miscele;
- facilità di impiego, volatilità e versatilità;
- bassi costi.

Schema della stratigrafia di un dipinto su tela o tavola.
(a) supporto costituito da una tavola lignea o da una tela;
(b) preparazione costituita da una carica inerte e un legante (es. gesso e colla animale);
(c) strato pittorico; i pigmenti, di origine minerale, venivano stesi mediante l'ausilio di un pennello; il legante può essere costituito da oli siccativi vegetali (lino, papavero, noce) o, ad esempio, dall'uovo (solo tuorlo o intero);
(d) vernice protettiva superficiale applicata dall'artista;
(e) materiali superficiali di origine esogena da rimuovere durante la fase di pulitura.

Tuttavia, come descritto dalla letteratura scientifica internazionale, quando un solvente liquido viene a contatto con la superficie di un dipinto può penetrare all'interno della struttura, provocando da una parte la solubilizzazione di alcune componenti appartenenti all'opera originaria - compromettendo, anche soltanto parzialmente, la stabilità della stessa - dall'altra l'alterazione delle proprietà ottiche del film pittorico. La successiva ritenzione del liquido all'interno della matrice del dipinto, favorisce infatti le interazioni fra le molecole del solvente e quelle dei materiali polimerici utilizzati per realizzare l'opera (leganti utilizzati per la stesura dei pigmenti, materiali proteici impiegati per la realizzazione della preparazione).
Quando le molecole del solvente vengono a contatto con le catene polimeriche si instaurano delle interazioni polimero-solvente che, se prevalgono sulle forze di attrazione polimero-polimero, provocano un allontanamento delle catene e quindi un rigonfiamento della matrice del polimero stesso. Si tratta di un effetto tanto più accentuato quanto maggiore è il tempo di ritenzione del solvente nel supporto, che cresce all'aumentare del valore della temperatura di ebollizione dello stesso.
Una volta evaporato il solvente, le molecole del polimero si organizzano secondo una disposizione tridimensionale diversa da quella originaria. Ciò può provocare l'alterazione delle proprietà ottiche della superficie della pittura, con conseguente alterazione della corretta leggibilità dell'opera stessa (sbiancamenti superficiali), e la formazione di microfratture che indeboliscono lo strato pittorico. Quest'ultimo fenomeno è dovuto principalmente agli stress meccanici causati dalle variazioni di volume legate al rigonfiamento delle sostanze polimeriche, al riarrangiamento spaziale delle loro molecole in seguito all'evaporazione del solvente (con variazione del volume iniziale e finale), alla possibile perdita di coesione tra i grani di pigmento e

Interazione fra i materiali organici di natura polimerica e i solventi utilizzati per le operazioni di pulitura.

la matrice legante. Talvolta questo effetto può essere minimizzato scegliendo solventi molto volatili, che abbiano un tempo di ritenzione basso nel film pittorico, o attraverso un'accurata applicazione degli stessi durante la fase di pulitura. A questi problemi molto spesso si sommano quelli dovuti alla tossicità delle sostanze impiegate, sia nei confronti dell'ambiente che degli operatori.
Queste limitazioni, nel tempo, hanno stimolato la ricerca di soluzioni alternative che perseguissero contemporaneamente due differenti obiettivi: minimizzare l'impatto delle operazioni di pulitura, e mantenere un livello soddisfacente delle prestazioni. In particolare, a partire dagli anni Novanta, sono state messe a punto nuove formulazioni basate sull'utilizzo dei sistemi che contengono i suddetti solventi supportati in un gel. In questo modo, grazie all'elevata viscosità e al potere di ritenzione, si possono minimizzare i rischi descritti in precedenza.

Le proprietà dei gel

Si tratta di sistemi colloidali viscoelastici, formati da un liquido o un gas disperso e inglobato in una fase solida, generalmente costituita da un polimero. Le molecole di quest'ultimo - interagendo tra loro mediante la formazione di legami covalenti *(gel chimici)* o non covalenti quali legami idrogeno, forze di London e forze di Van der Waals *(gel fisici)* - danno luogo alla formazione di un reticolo tridimensionale, termicamente reversibile per i gel fisici, ma non per quelli chimici. Le forze che agiscono tra le molecole del polimero, legate alla flessibilità delle catene e all'affinità tra loro stesse, regolano l'espansione e la contrazione del reticolo. La risultante di queste forze determina la sua capacità di supportare la fase continua, che nei gel comunemente impiegati per la pulitura di superfici pittoriche è costituita da uno o più solventi miscelati. Si forma così una struttura che visivamente appare soffice, ma che, in realtà, ha proprietà di volume del tutto simili a quelle di un solido.
Dal punto di vista fenomenologico, a livello macroscopico, possiamo definire un gel come un sistema con caratteristiche intermedie tra un solido e un liquido (si pensi, ad esempio, ai budini o alla panna cotta). La prima definizione, basata soprattutto su osservazioni empiriche macroscopiche, è quella data da Thomas Graham nel XIX secolo, secondo la quale *"un gel è una dispersione colloidale* [vedi anche il box a pag. 49 di Green n. 23, *ndr*] *semirigida di un solido in presenza di un liquido o di un gas"*. In realtà gli aspetti macroscopici, così come le proprietà chimico-fisiche, sono strettamente dipendenti dalla struttura microscopica del sistema; solo nel XX secolo Jan Joseph Hermans riuscì a collegare queste due caratteristiche, parlando di un gel come di *"un sistema coerente di almeno due componenti che mostra proprietà meccaniche caratteristiche dei solidi, dove sia il componente disperso che il mezzo disperdente sono estesi in maniera continua attraverso l'intero sistema"*. Dal punto di vista nanoscopico, un gel è caratterizzato da una struttura "bicontinua", cioè da una struttura costituita da due domini interconnessi ma non intersecati fra loro, separati da una superficie; deve esistere almeno una traiettoria ideale che consente di muoversi da un punto a un altro di ciascuna delle due fasi senza venire a contatto con l'altra componente. Dal punto di vista meccanico, invece i gel sono strutture ad elevata viscosità, caratterizzate da un comportamento viscoelastico tale che la componente elastica è sempre molto maggiore di quella viscosa.
Le proprietà di un gel possono essere modulate grazie a vari fattori, dipendenti dalla natura chimica del sistema; in particolare, pur minimi cambiamenti di alcuni parametri chimico-fisici come pH, forza ionica e temperatura, possono provocare drastici mutamenti nella struttura e, conseguentemente, nelle proprietà macroscopiche del sistema.

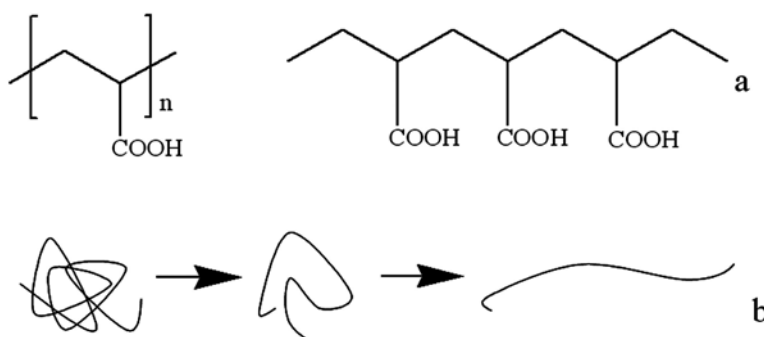
Gel per la conservazione dei beni culturali

Fu Richard Wolbers a proporre per primo, negli anni Ottanta, l'utilizzo di sistemi ad alta viscosità per la pulitura dei dipinti mediante prodotti a base di tensioattivi

anionici leggermente alcalini (i cosiddetti *resin soap),* i cui componenti presentano un'elevata affinità con le principali classi di materiali da rimuovere, comunemente presenti sulla superficie di dipinti su tela o tavola. Alla fine del decennio, lo stesso Wolbers mise a punto una classe di veri e propri gel (i *solvent gels)* a base di acido poliacrilico (PAA), i quali ancor oggi rappresentano una delle soluzioni più comunemente impiegate per la pulitura di pitture su tela e tavola.

Il gel si forma poiché i gruppi funzionali acidi (-COOH) presenti nella struttura del polimero acquistano una carica negativa ($-COO^-$) per effetto dell'addizione di opportune sostanze basiche, dando luogo alla formazione di carbossilati. In questo modo si genera un'interazione elettrostatica repulsiva intra e inter-molecolare tra i gruppi carichi negativamente che altera la configurazione tridimensionale. Infatti, mentre prima dell'aggiunta della base le catene di polimero presentano una forma sferoidale a gomitolo, dopo la deprotonazione dei gruppi carbossilici le interazioni repulsive fanno sì che la catena assuma una conformazione distesa. Ciò, in presenza di acqua, permette la formazione di un gel fisico stabile e perfettamente trasparente, grazie soprattutto alla formazione di legami a idrogeno. Le potenzialità più rappresentative di questi particolari sistemi risiedono nella possibilità di gelificare con estrema semplicità la maggior parte dei solventi o delle soluzioni acquose comunemente impiegati per la pulitura di dipinti su tela e tavola. Inoltre, possono essere utilizzati anche per le pitture murali e, da un punto di vista operativo, la loro preparazione è estremamente semplice.

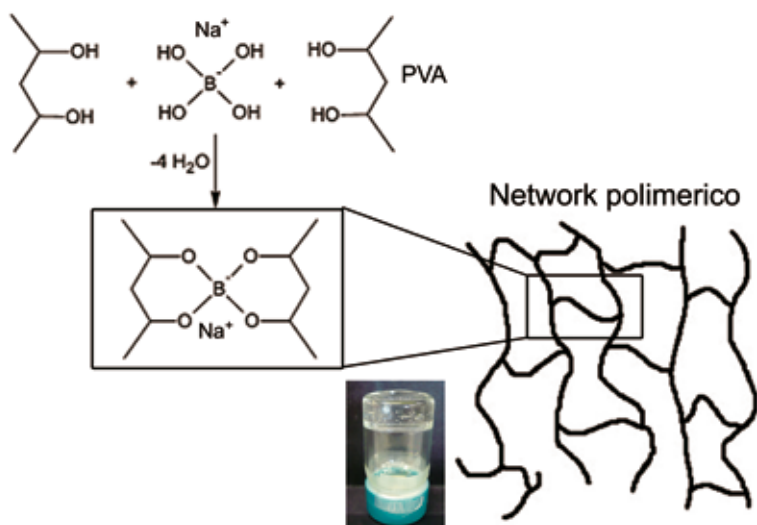
L'utilizzo dei gel presenta diversi vantaggi rispetto all'uso dei solventi liquidi.

1. Grazie alla loro elevata viscosità (il valore aumenta anche di 10.000 volte rispetto a un comune solvente liquido) hanno un ottimo potere di ritenzione nei confronti dei solventi o delle soluzioni gelificate. Questo limita l'azione del solvente all'interfase fra l'opera e l'ambiente esterno, minimizzando la sua penetrazione all'interno del dipinto. Infatti, la diffusione massiva delle molecole di solvente all'interno di una fase gel è assai inferiore a quella che si registra per la fase liquida. Il loro impiego è ancora più vantaggioso quando si deve ricorrere all'uso di acidi e basi; se vengono supportati in un gel si evita il rischio di diffusione all'interno del dipinto. Infatti, se usati in forma libera (soluzioni acquose) potrebbero penetrare negli strati pittorici più porosi e agire incontrollati sui costituenti del manufatto originale.
2. Variando i tempi di applicazione sulla superficie dell'opera, solitamente dell'ordine di qualche minuto, e la composizione della miscela solvente è possibile massimizzare la selettività e la gradualità della pulitura.
3. Sono solitamente sistemi abbastanza trasparenti che permettono il controllo visivo dell'operazione di pulitura.
4. Sono molto versatili, oltre ai solventi organici è possibile gelificare anche enzimi e agenti chelanti.
5. Possono essere applicati su supporti di natura diversa; anche se fino ad ora sono stati utilizzati prevalentemente per la conservazione di tele e tavole, hanno dato ottimi risultati anche su altri materiali, come vetro e metallo.
6. Minimizzano l'evaporazione del solvente riducendo, di conseguenza, anche i rischi per l'operatore.

Il limite fondamentale dei gel a base di PAA è legato alla difficoltà della loro rimozione completa dalla superficie del dipinto, una volta che hanno espletato la propria funzione. Spesso risulta necessaria una discreta azione meccanica che può compromettere la superficie dell'opera, soprattutto nelle aree non ben coese. In particolare, i residui di gel a base di PAA, che a lungo termine potrebbero avere effetti incontrollati per l'opera, generalmente possono essere completamente rimossi solo con l'applicazione diretta di solventi organici liquidi, i cui potenziali effetti negativi sono stati descritti in precedenza.

Le HVPD

Negli ultimi cinque anni, presso i laboratori di ricerca del *Consorzio interuniversitario per lo sviluppo dei Sistemi a Grande Interfase* di Firenze (CSGI, unità operativa del Dipartimento di Chimica "Ugo Schiff"

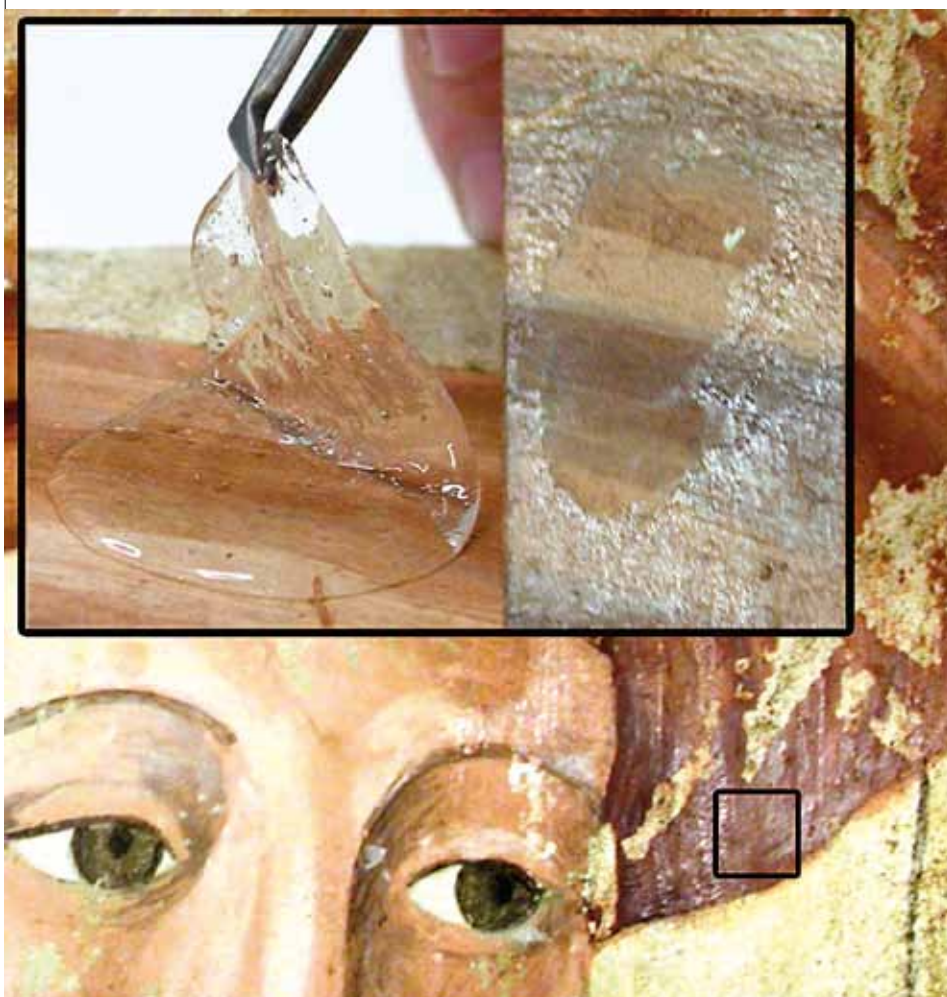
n COOH COOH COOH COOH a b

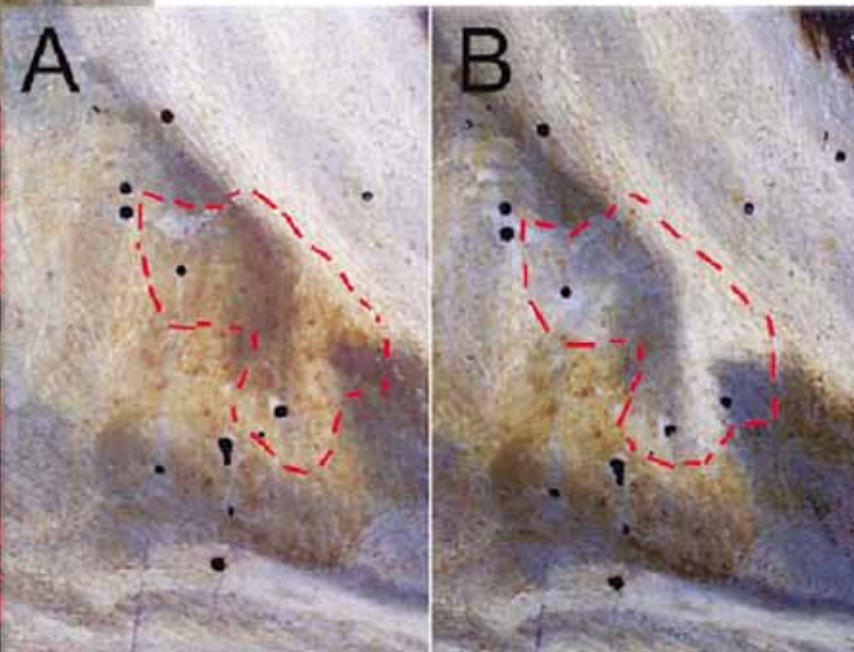
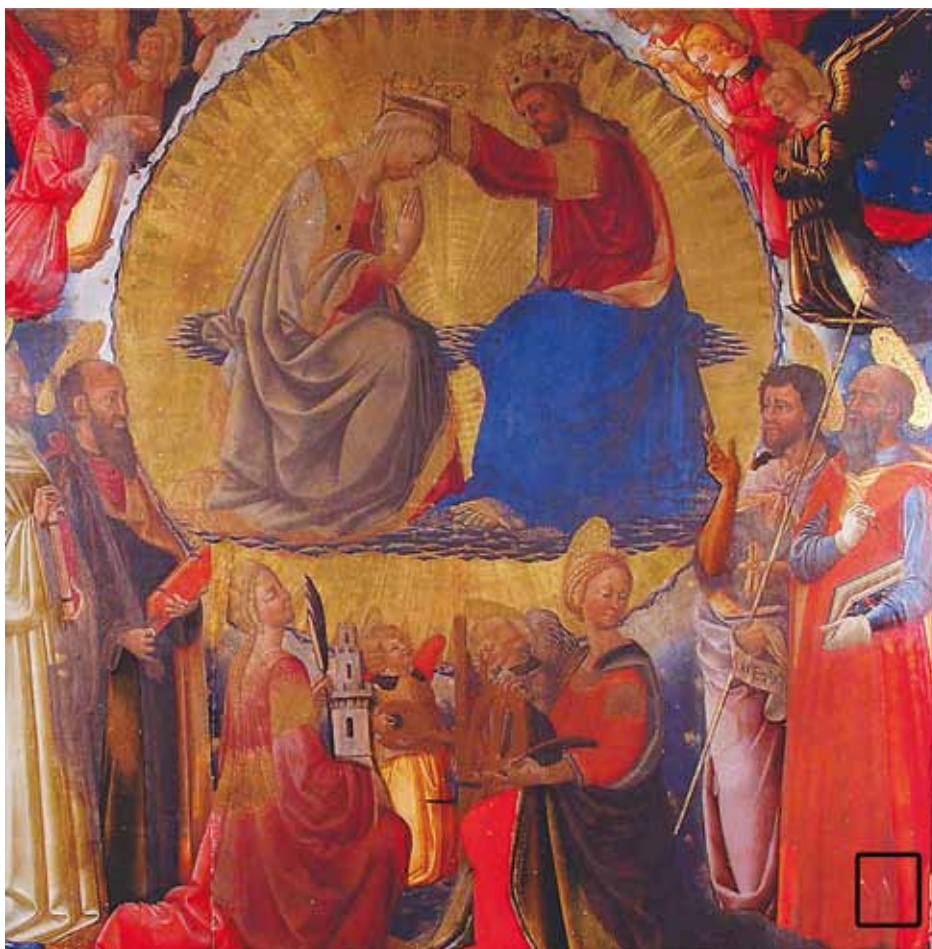
Struttura del PAA, l'acido poliacrilico (a), e cambiamenti della struttura tridimensionale, da sferoidale a lineare, della catena polimerica, dovuti alle interazioni repulsive tra i gruppi carbossilici -COOH (b).

Reazione di complessazione fra il PVA e lo ione borato con conseguente formazione di un network (reticolo) polimerico tridimensionale.

formare legami a idrogeno e, soprattutto, lo rende idrosolubile. Una caratteristica importante è la sua capacità di gelificare soluzioni acquose semi-diluite, per effetto di reazioni di complessazione con diversi ioni inorganici quali lo ione borato, lo ione antimoniato e lo ione vanadato. In particolare, nel corso degli anni l'attenzione dei ricercatori si è focalizzata sui sistemi termoreversibili basati sul complesso PVA-borato, perché si sono rivelati molto interessanti sia dal punto di vista delle proprietà chimico-fisiche, che dal punto di vista industriale. Si tratta, infatti, di sistemi estremamente versatili, le cui proprietà meccaniche possono essere facilmente modulate giocando sulle concentrazioni di PVA e ione borato.

dell'Università degli Studi di Firenze), sono stati messi a punto sistemi ad alta viscosità a base di polivinil alcol (PVA) con lo scopo preciso di minimizzare l'impatto delle operazioni di pulitura, mantenendo nel contempo un ottimo livello di prestazioni. Il PVA è un polimero sintetico prodotto mediante idrolisi del polivinilacetato. La presenza dei gruppi ossidrile (-OH) polari nelle catene polimeriche permette di

La reologia studia le proprietà chimico-fisiche dei materiali che presentano comportamento viscoso ed elastico. La sua applicazione nell'analisi delle proprietà meccaniche di questi sistemi a base di PVA/acqua/borace ha dimostrato che in realtà non possono essere considerati rigorosamente dei veri e propri gel; in questo caso è più corretto parlare di HVPD, *High Viscosity Polymeric Dispersions* (dispersioni polimeriche ad alta viscosità). In ter-

Esempio di rimozione, mediante azione di peeling con una pinzetta, di sistemi a base di PVA/borace/acqua/solvente da un provino simulante un affresco.
[Immagine riprodotta per gentile concessione dell'American Chemical Society da E. Carretti, M. Bonini, L. Dei, B. H. Berrie, L. V. Angelova, P. Baglioni, R. G. Weiss, Acc. Chem. Res. 43, 2010, 751–760. Copyright 2010 American Chemical Society]

mini più tecnici, il modulo elastico (G') di questi sistemi non è sempre maggiore del modulo viscoso (G"), come sempre accade nei gel veri e propri. Le HVPD a base di PVA hanno dimostrato di avere comunque un'ottima capacità di supportare numerosi solventi organici, tra cui quelli comunemente utilizzati per la pulitura di superfici pittoriche di interesse storico-artistico.
I sistemi HVPD si sono rivelati particolarmente interessanti proprio perché, oltre a presentare tutti i vantaggi tipici dei gel, consentono anche di ridurre al minimo il problema del residuo a fine utilizzo. Essi possiedono proprietà meccaniche tali da consentire la loro rimozione in modo facile e sicuro, senza l'aggiunta finale di un componente liquido, al contrario di quanto avviene nel caso dei gel a base di PAA. In particolare, l'elevata elasticità - facilmente modulabile variando il rapporto PVA/borace o la loro concentrazione totale - consente di rimuoverli in un unico stadio mediante una semplice azione di *peeling* con l'ausilio di una pinzetta, senza esercitare alcuna forza tangenziale significativa sulla superficie del dipinto. La figura a pagina precedente descrive questo procedimento: il "gel" è stato applicato su un campione di malta affrescato per rimuovere lo strato superficiale di resina copolimerica di natura acrilica. L'uso di questa tecnica ha permesso di minimizzare sia la quantità di residui di HVPD lasciati sull'opera, sia l'azione meccanica, talvolta necessaria per la completa rimozione dei gel tradizionali *(solvent gel)*.
Un'altra caratteristica interessante dei sistemi viscoelastici complessi a base di PVA/acqua/borace è la versatilità chimica: nella loro matrice possono essere caricati vari solventi organici a differente polarità, puri o in miscela, tra cui: 1-propanolo, 1-pentanolo, etanolo, 2-butanolo, cicloesanone, propilene carbonato, metilpirrolidone e acetone. Ciò significa che, oltre alle proprietà meccaniche, è possibile modulare - attraverso test preliminari basati sulla composizione chimica delle sostanze da rimuovere - anche la polarità del compo-

"Santo Stefano" di Ludovico Cardi (1559-1613), detto "il Cigoli". Il riquadro nero indica l'area dove sono stati eseguiti i test di pulitura. Le immagini A e B rappresentano la zona interessata dall'applicazione di HVPD a base di PVA/borace/acqua/1-propanolo, rispettivamente prima e dopo il restauro sperimentale.
[Immagine riprodotta per gentile concessione dell'American Chemical Society da: E. Carretti, S. Grassi, M. Cossalter, I. Natali, G. Caminati, R. G. Weiss, P. Baglioni, L. Dei, Langmuir, 25, 2009, 8656–8662. Copyright 2009 American Chemical Society]

"Incoronazione della Vergine con Santi" (XV secolo) di Neri di Bicci, Galleria degli Uffizi (Firenze), tempera a uovo su tavola. Il riquadro indica la regione dove sono stati eseguiti i test di pulitura. A destra è riportato un particolare dei materiali presenti in superficie, costituiti da due strati sovrapposti: una tessitura scura a cui si sovrappone uno strato di grumi di colore scuro. [Immagine riprodotta per gentile concessione della Elsevier da: Journal of Cultural Heritage, 11, E. Carretti, I. Natali, C. Matarrese, P. Bracco, R. G. Weiss, P. Baglioni, A. Salvini, L. Dei, A new family of high viscosity polymeric dispersions for cleaning easel paintings, 373-380. Copyright 2010 Elsevier].

nente liquido, dalla quale dipende il potere pulente del sistema. In tal modo viene sempre garantita un'azione di pulitura efficace e selettiva, che può essere ulteriormente modulata variandone la quantità caricata nella dispersione polimerica. Altro vantaggio delle HVPD a base di PVA è che esse sono trasparenti e incolori, permettendo il monitoraggio visivo in continuo del dipinto durante tutta la durata dell'operazione di restauro.

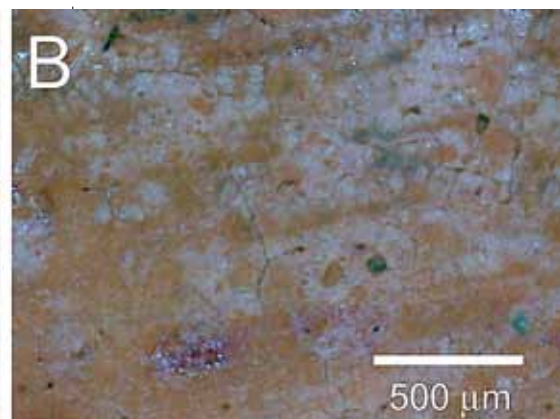
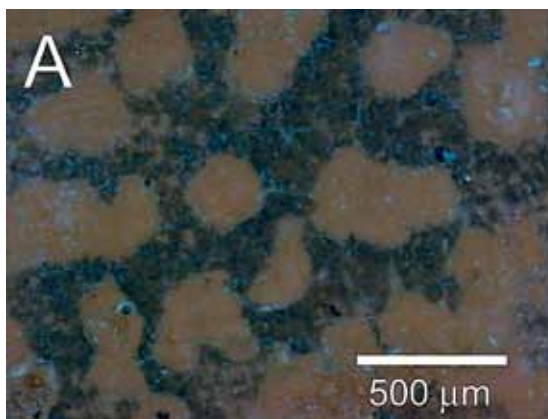
Due esempi

Alcune delle HVPD formulate durante la ricerca al CSGI sono state selezionate per l'esecuzione di prove di pulitura di pitture antiche: lo scopo è stato quello di valutare la loro efficacia nel rimuovere materiali superficiali di degrado, costituiti da vernici, non appartenenti all'opera originaria, solitamente applicate in passato sulle superfici pittoriche con funzione protettiva. Oggetto dei test sono due dipinti su tavola: il *"Santo Stefano"* di Ludovico Cardi (1559-1613), detto *il Cigoli*, e *"L'incoronazione della Vergine con Santi"* di Neri di Bicci (1470 - 1475).
Il primo è un dipinto a olio su legno di pioppo raffigurante il Santo inginocchiato con lo sguardo rivolto verso l'alto, in un atteggiamento di venerazione (vedi figura a pagina precedente). Da una sezione del materiale pittorico è possibile intuire la composizione stratigrafica dell'opera. La tavola sembra essere stata "impannata": una tela, forse in canapa, è stata incollata sul tavolato e su di essa l'artista ha deposto una sottile preparazione di gesso e colla. Su quest'ultima è stato steso uno strato di colore grigio prima della dipintura vera e propria eseguita con colori a olio, usando una tavolozza caratterizzata per la maggior parte da tonalità calde di rosso e marrone e dal bianco. Lo strato pittorico risulta coperto da un film protettivo composto da vernici ormai imbrunite a seguito di fenomeni ossidativi, applicato in precedenti interventi di restauro, che compromette parzialmente la corretta lettura del dipinto.
Da anni sono in corso ricerche per mettere a punto una metodologia di pulitura appropriata che permetta un assottigliamento selettivo e graduale della vernice superficiale. Sono state eseguite prove di pulitura mediante HVPD a base di PVA nella zona della veste bianca del Santo. I sistemi da applicare sono stati selezionati in base alle loro proprietà meccaniche macroscopiche

e alla loro composizione, focalizzando l'attenzione su quello a base di PVA/borace/acqua/1-propanolo (quest'ultimo solvente presente nella misura del 30% in peso). I test sono stati eseguiti dal CSGI in collaborazione con la *Fondazione Università Internazionale dell'Arte* (UIA) in un progetto di ricerca congiunto, concordato con la dottoressa Maria Matilde Simari della Soprintendenza Speciale per il Polo Museale della città di Firenze.

La finalità delle prove era quella di assottigliare gradualmente lo strato protettivo alterato. I sistemi contenenti 1-propanolo sono stati stesi sulla superficie grazie all'aiuto di una spatola e lasciati in contatto con la superficie per 1-4 minuti, prima di essere facilmente rimossi mediante *peeling* con una semplice pinzetta. Dopo una sola applicazione dell'HVPD si osserva un assottigliamento dello strato di vernice superficiale; la completa rimozione della patina viene ottenuta soltanto con la ripetizione dell'operazione, seguita poi da una mirata azione meccanica effettuata manualmente con l'ausilio di un bisturi. Alla fine di ogni prova sulla superficie è stato eseguito un singolo lavaggio con *white spirit,* una miscela di idrocarburi che viene comunemente usata per rimuovere ogni traccia di residui di gel.

HVPD a base di PVA e contenenti acetone (15 % in peso) sono state impiegate con successo dalle restauratrici che hanno eseguito il test, Paola Bracco e Kyoko Nakahara, per la rimozione di materiali superficiali estremamente degradati dalla superficie del dipinto di Neri di Bicci, conservato presso la Galleria degli Uffizi di Firenze, durante un progetto sempre in collaborazione con l'UIA e le Soprintendenze competenti (dottoresse Maria Sframeli e Cristina Masdea). Il deterioramento della vernice protettiva è molto evidente, in particolare nella zona del mantello rosso di San Girolamo. All'analisi col microscopio ottico essa risulta costituita da due strati sovrapposti: il primo formato da grumi di colore bruno, il secondo, difficilmente asportabile, da una tessitura scura fortemente adesa allo strato pittorico sottostante.

Nella figura del dipinto viene mostrata l'area in cui sono stati eseguiti i test di pulitura. Dopo una prima applicazione di un HVPD a base di PVA/borace/acqua/acetone (15% in peso; tempo di contatto 5 minuti) si ottiene l'ammorbidimento dei grumi superficiali a base di gommalacca, i quali possono poi essere facilmente asportati con l'ausilio di un bisturi. La tessitura residua sottostante è stata rimossa solo dopo una seconda applicazione del suddetto sistema (vedi figura qui sopra).

Immagini della zona dell'"Incoronazione della Vergine con Santi" di Neri di Bicci interessata dal test di pulitura prima (A) e dopo (B) la seconda applicazione dell'HVPD a base di PVA/borace/acqua/acetone. L'immagine a falsi colori è stata ottenuta con un microscopio USB portatile: le parti da rimuovere sono rappresentate dalle macchie scure che sono quasi del tutto scomparse dopo il restauro sperimentale (B). [Immagine riprodotta per gentile concessione dell'Elsevier da doi:10.1016/j.culher.2010.04.002. Copyright 2010]

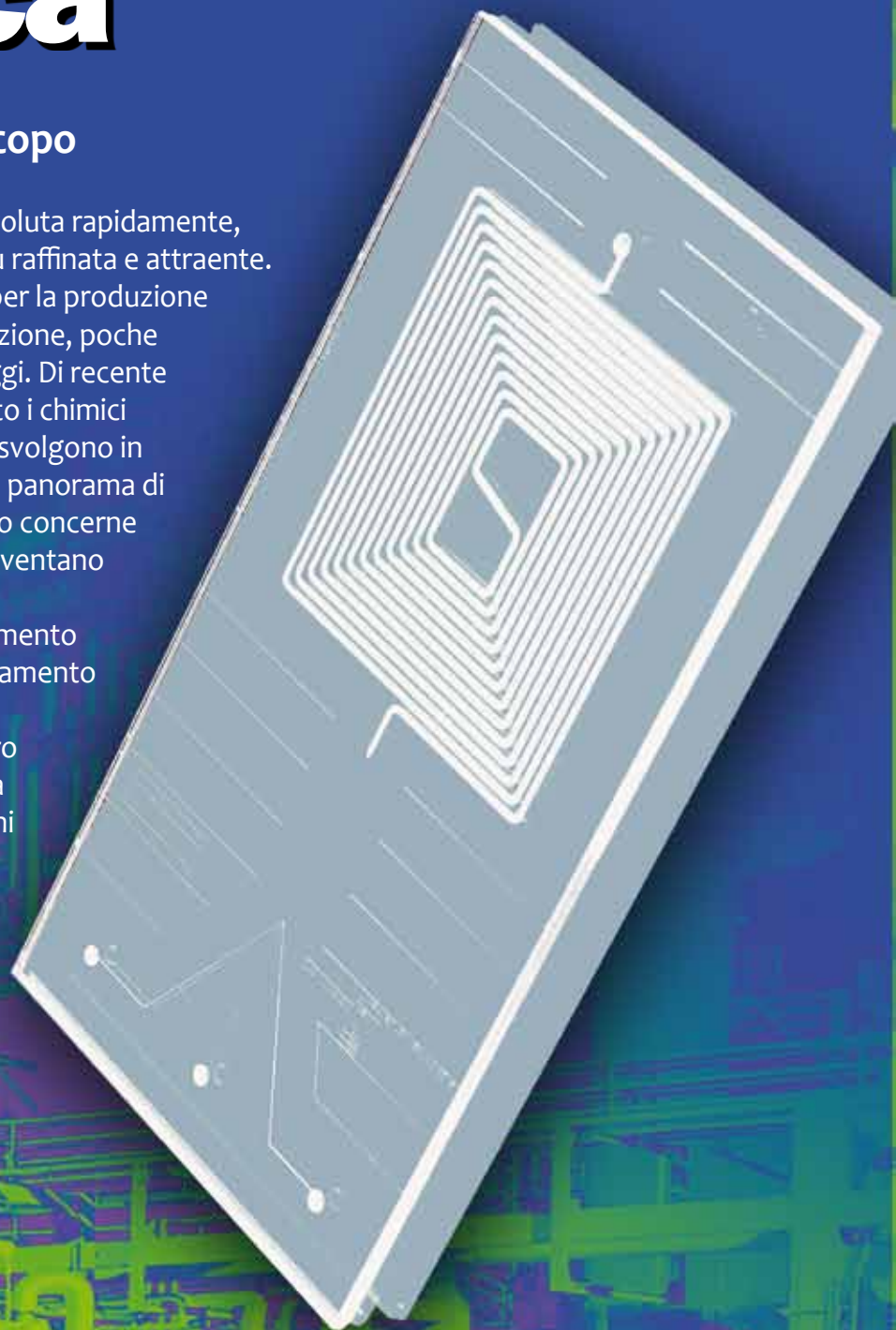
In conclusione

Le due prove di pulitura con HVPD sopra descritte hanno dato esito molto positivo, grazie all'azione estremamente controllata di rimozione delle vernici con l'assottigliamento graduale dello strato protettivo. Anche i tecnici restauratori professionisti, che hanno seguito tutte le fasi della sperimentazione assieme ai ricercatori del CSGI, hanno evidenziato i vantaggi di questi sistemi di pulitura e ne ipotizzano un grande potenziale per l'utilizzo futuro:

- aderiscono perfettamente alla superficie del dipinto garantendo un'azione omogenea sulla zona interessata dal trattamento;
- l'azione di solubilizzazione e/o ammorbidimento del materiale da rimuovere è graduale e facilmente controllabile, sia visivamente che al microscopio, grazie alla trasparenza dei "gel" utilizzati;
- l'elevata elasticità dei sistemi HVPD permette una facile rimozione mediante *peeling* che consente di perseguire contemporaneamente due risultati: minimizzazione dei residui di gel sulla superficie del dipinto e dell'azione meccanica necessaria per la sua rimozione nel rispetto dell'integrità del dipinto originale.

Emiliano Carretti,
Piero Baglioni e Luigi Dei
Dipartimento di Chimica "Ugo Schiff"
e Consorzio CSGI
Università degli Studi di Firenze

di Milena Marchegiani
e Calogero Giancarlo Piscopo

Attraverso i secoli la chimica si è evoluta rapidamente, diventando una scienza sempre più raffinata e attraente. Tuttavia le apparecchiature usate per la produzione industriale hanno subìto, in proporzione, poche trasformazioni dal Medioevo ad oggi. Di recente l'osservazione della natura ha spinto i chimici verso lo sviluppo di processi che si svolgono in flusso continuo, aprendo un ampio panorama di innovazioni, soprattutto per quanto concerne le caratteristiche dei reattori che diventano sempre più piccoli.
Questa novità, che in un primo momento appariva come un semplice miglioramento tecnologico, potrebbe rivelarsi una vera rivoluzione del prossimo futuro nei settori produttivi della "chimica fine" che non necessitano di enormi quantitativi di prodotto, come le industrie farmaceutiche e cosmetiche.

I processi in flusso continuo

Già a cavallo del VI e V secolo a.C. il filosofo greco Eraclito aveva interpretato l'intero universo come un enorme flusso perenne, nel quale nessuna cosa è mai la stessa e tutto si trasforma, la nota teoria del *Panta rei*.
Però la trasformazione ininterrotta della materia sfugge sovente alla nostra osservazione. È più congeniale alla mente umana rilevare trasformazioni immediate e repentine, che non un lento maturare scandito da processi continui. Tuttavia occorre sottolineare quanto spesso la natura stessa si serva di questi ultimi per dare origine a trasformazioni macroscopiche. Basti pensare al flusso della linfa in un essere vegetale o ancor più al sistema circolatorio degli animali, dove avviene un continuo formarsi e rompersi di legami chimici fra l'emoglobina e l'ossigeno che permette di fornire all'organismo un agente ossidante necessario al metabolismo.
La lezione della natura però ha fatto grande fatica ad essere compresa dalla chimica fine, mentre l'applicazione di processi a flusso continuo ha senz'altro un ruolo fondamentale in quella che è la grande produzione industriale. Tuttavia, anche in questo campo i primi reattori furono di tipo *batch*, cioè veri e propri contenitori in cui venivano inseriti i reagenti, il catalizzatore e il solvente per poi chiudere ermeticamente, raggiungere le temperature e le pressioni desiderate e miscelare il tutto fino al completamento della reazione. Infine, si apriva nuovamente il contenitore per recuperare i prodotti, i reagenti residui e, spesso purtroppo, i sottoprodotti non desiderati.
Reattori di questo tipo sono ancor oggi ampiamente utilizzati, anche se i processi che vi avvengono sono accompagnati da diversi problemi quali difficoltà operative, sicurezza, lunghi tempi di sviluppo su scala industriale (*scale-up*), riproducibilità difficoltosa e campo di utilizzo limitato (talvolta ad una sola, specifica, applicazione). Ciò è dovuto principalmente all'elevata complessità delle apparecchiature. Per questa ragione, oggi, la produzione industriale su larga scala utilizza sempre più frequentemente impianti a flusso continuo, avendo come obiettivo fondamentale la selettività di processo, anche a discapito della resa. Infatti, un processo altamente selettivo genera quantità minime di sottoprodotti, riducendo sia i problemi economici che quelli di impatto ambientale. I composti indesiderati che si formano sono spesso causa di avvelenamento dei catalizzatori con conseguente riduzione del loro tempo di vita; debbono essere recuperati dal mezzo di reazione, separati e smaltiti utilizzando tecniche, oggi obbligatoriamente ecocompatibili e alquanto costose. Gli impianti a flusso per la produzione industriale su larga scala si dividono in due grandi categorie di seguito descritte.

CSTR, Continuos Stirred-Tank Reactor (reattore a serbatoio con agitazione continua). Molto simile al "contenitore" ad agitazione continua in *batch*, ma in questo caso l'aggiunta di reagenti e solvente e il prelievo della miscela di reazione (prodotti, reagenti non convertiti e sottoprodotti) sono continui. In questo caso la conversione - ovvero la resa - è sicuramente inferiore, ma c'è meno produzione di sottoprodotti e scarti, con abbattimento delle spese di smaltimento. Inoltre il minore tempo di contatto tra i composti indesiderati e il catalizzatore, allunga la vita di quest'ultimo.

PFR, Plug Flow Reactor (reattore a flusso a pistone). La vera grande innovazione di quest'apparecchiatura è rappresentata dal fatto di essere costituita da un cilindro metallico di diametro variabile, la cui lunghezza - direttamente proporzionale alla conversione dei reagenti - viene definita in fase di progettazione in funzione delle rese che si desidera ottenere. All'interno non

In apertura: microreattore in vetro per reazioni a tre componenti.

LA TERMINOLOGIA DEI MICROREATTORI A FLUSSO CONTINUO

Resa
Rapporto tra la quantità di prodotto realmente ottenuta e quella teoricamente ottenibile dall'equazione della reazione:

resa (%) = $(moli_{prodotte} / moli_{teoriche}) \times 100$

Conversione
Rapporto tra la quantità di reagente consumata da una reazione chimica e quella inizialmente presente nell'ambiente di reazione, in altre parole è un indice di quanto reagente prenda parte alla reazione:

conversione (%) = $(moli_{reagite} / moli_{teoriche}) \times 100$

Selettività
Rapporto tra la quantità di reagente che si è trasformata in una reazione chimica nel prodotto desiderato rispetto a quella presente inizialmente. Tale grandezza riguarda cioè la frazione di reagente che effettivamente va a formare il prodotto a cui si è interessati:

selettività (%) = $(moli_{prodotto} / moli_{reagite}) \times 100$

Catalizzatore
Sostanza capace di intervenire in un processo chimico e di aumentare la velocità delle reazioni (abbassando l'energia di attivazione, vedi *Green* n. 6, pagg. 12-13), senza modificarne il risultato in termini di prodotti ottenuti.

Catalisi eterogenea
Reazione in cui il catalizzatore e il reagente esistono in due fasi differenti (ad esempio, solido/liquido).

Microlitografia
Metodo d'incisione che sfrutta varie tecniche (fascio di elettroni ecc.) e permette di creare solchi sulla superficie di piccole aree di materiale, con dimensioni tipicamente dell'ordine delle decine di micrometri quadrati.

Friedrich Wöhler (1800-1882) è considerato un pioniere della chimica organica, grazie alla sua sintesi "accidentale" dell'urea del 1828. Questa scoperta fece in pratica cadere la "Teoria della forza vitale", ritenuta valida per diversi secoli, la quale affermava che fosse impossibile la formazione delle molecole organiche (tipiche degli esseri viventi) a partire da quelle inorganiche (diffuse nel mondo inanimato).

presenta agitatori meccanici come nel caso del *batch* e del CSTR. È specificatamente progettato per processi in cui il "tubo" può essere "imbottito" con il catalizzatore, generalmente solido, rispetto al mix di reazione che è liquido; da qui l'appellativo di catalisi eterogenea. A seconda del tipo di riempimento che viene effettuato, si definiscono due tipi di PFR: a *letto fluido* (o *fluidizzato*) e a *letto fisso*. Nel primo caso il reattore possiede internamente delle griglie fini che dividono in più parti il "tubo" nel senso della lunghezza, il catalizzatore viene posizionato in una sezione sotto forma di granelli (*pellets*) con diametro maggiore della maglia delle griglie, ciò permette al flusso di sospendere vorticosamente queste particelle che non possono sfuggire dallo spazio delimitato in cui si trovano. Nel caso del letto fisso, invece, il catalizzatore, usato sempre sotto forma di *pellets* non si muove, trovandosi ben impaccato in una struttura interna al tubo, a formare una sorta di cartuccia filtrante con le estremità forate. Nel caso di reazioni in fase omogenea vi è la possibilità di utilizzare *PFR* anomali, costituiti da un tubo di notevole lunghezza, dotato di curve a gomito e di elementi metallici interni. Questi permettono al flusso di procedere verso l'uscita, creando vortici che portano al mescolamento della miscela di reazione, senza l'ausilio di agitatori di tipo meccanico. Si tratta di una tecnica particolare che ogni industria vorrebbe sempre utilizzare, ma che è limitata a conversioni non catalitiche; infatti non prevede l'utilizzo del catalizzatore, in modo da evitare improvvisi aumenti di pressione dovuti a intasamento.

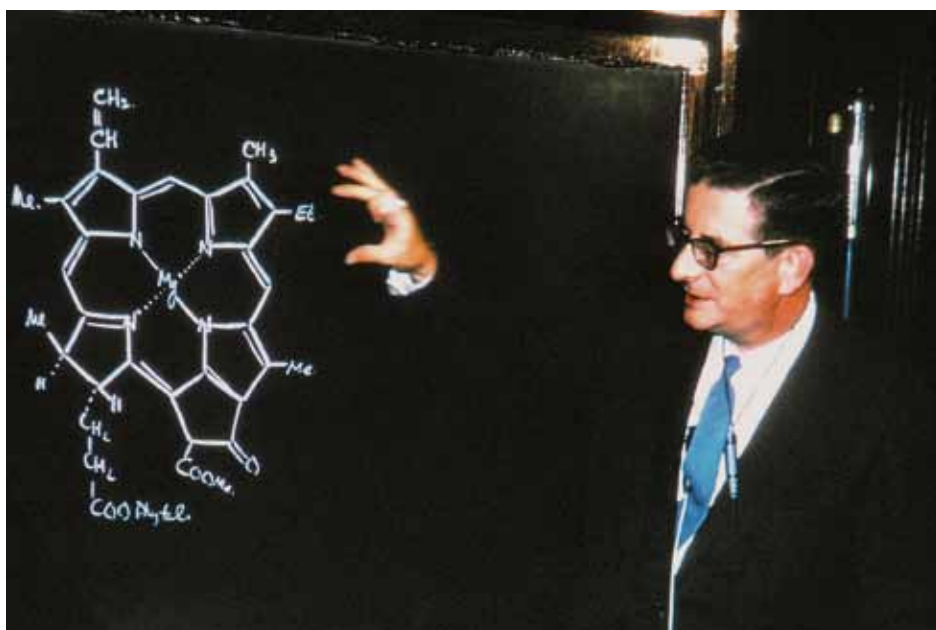
$NH_4^+ \; ^-O{-}C{\equiv}N \longrightarrow NH_3 + HO{-}C{\equiv}N \longrightarrow H_2N{-}C({=}O){-}NH_2$

Cianato d'ammonio — Ammoniaca — Acido cianico — Urea

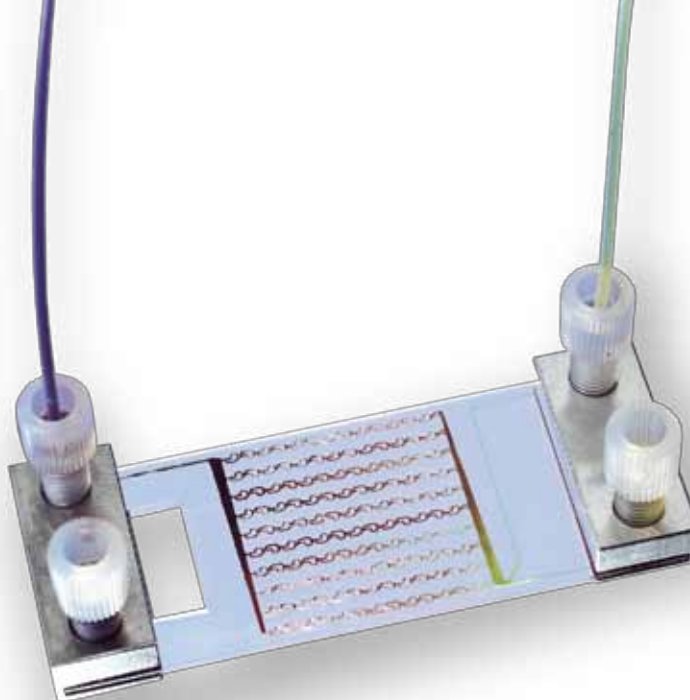
Sintesi dell'urea col processo di Wöhler. Nel 1828 lo scienziato, nel tentativo di sintetizzare il cianato d'ammonio, fece reagire cianato di piombo, ammoniaca e acqua, ottenendo il composto desiderato più idrossido di piombo. Il cianato d'ammonio è però altamente instabile e si dissocia immediatamente in ammoniaca e acido cianico che si ricombinano a formare l'urea, una molecola ampiamente diffusa nel metabolismo animale.

Chimica bulk e chimica fine

Il primo processo industriale che ha impiegato in grande scala le reazioni a flusso continuo è il processo Haber-Bosch brevettato dalla BASF per la produzione di ammoniaca (NH_3), nato nel 1910 e sviluppato sotto la spinta della politica bellica della Germania, prossima all'ingresso nella prima guerra mondiale. Esso prevede la produzione di ammoniaca direttamente dal gas di sintesi, ovvero da una miscela di azoto (N_2) e idrogeno (H_2) molecolari in rapporto di 1:3. Inizialmente vennero utilizzati come catalizzatori osmio e uranio, ma - vista la loro pericolosità - si passò rapidamente all'uso di una miscela di magnetite (Fe_3O_4), supportata su allumina (ossido di alluminio, Al_2O_3). Quest'ultima, meno costosa e decisamente più sicura per l'ambiente e la salute, viene ancora oggi utilizzata e permette una resa del 97%. In questo processo si utilizza come reattore un PFR a *letto fluidizzato* in modo da aumentare la superficie di contatto tra i reagenti e il catalizzatore, in quanto quest'ultimo si trova sospeso tra le particelle di gas sotto forma di pellets.

Quando però si passa dalla scala delle migliaia di tonnellate della produzione di base (chimica bulk) a quella di decine o centinaia di chilogrammi della chimica fine, la situazione cambia drasticamente. Immaginare un intero impianto, tipo quello citato per la produzione di ammoniaca, dedicato alla sintesi di una molecola organica complessa, magari dotata di attività biologica - come il principio attivo di un farmaco - risulta un po' difficile, soprattutto perché ciò

Robert Burns Woodward (1917-1979), premio Nobel per la Chimica nel 1965. Era uno scienziato statunitense, considerato da molti come il chimico organico preminente del ventesimo secolo, in particolar modo per il suo significativo contributo allo studio e sintesi delle molecole naturali complesse, tra cui: la vitamina B12, il cortisone, la clorofilla, alcune cefalosporine (una classe di antibiotici), la reserpina (un antipertensivo) e altre molecole d'interesse farmaceutico.

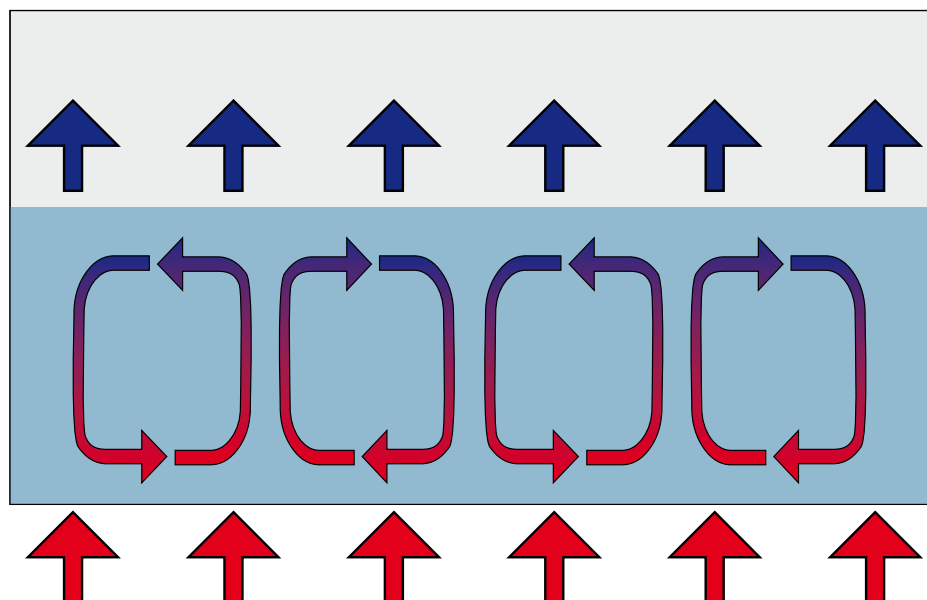
si scontra con i parametri economici della produzione.
Così per secoli, anche quando la chimica bulk già utilizzava processi in flusso continuo, quella fine continuava a sfruttare metodologie *batch* e la comune vetreria di laboratorio un po' come avviene, con le dovute differenze, in cucina. Fino a qualche tempo fa lo sviluppo tecnologico in questo settore è stato abbastanza limitato. Ad esempio, gli strumenti utilizzati nel 1828 dal tedesco Friedrich Wöhler (1800-1882) per la sintesi dell'urea erano praticamente gli stessi di quelli che furono impiegati dal gruppo di ricerca dello statunitense Robert Burns Woodward (1917-1979), 140 anni dopo, per sintetizzare la ben più complessa vitamina B_{12}.
La branca della chimica fine si interessa della sintesi di prodotti la cui lavorazione richiede diversi passaggi (come ad esempio principi attivi dei farmaci, saponi, aromi, cosmetici ecc.), generando un enorme quantitativo di scarti. Va ricordato, infatti, come alla produzione di un chilogrammo di un principio attivo di un farmaco si accompagna quella di 25-100 kg in media di rifiuti, mentre per la petrolchimica il corrispettivo scarto è inferiore a 0,1 kg.
L'assoluta necessità di rendere più efficienti e pulite le metodologie di sintesi della chimica fine, introducendo tecniche a flusso e microreattoristiche è stata evidenziata da Andrzej Stankiewicz (Università di Delft, Olanda) in una *review* pubblicata nel 2003. L'autore confronta in modo gradevole, ma anche di grande effetto, un'immagine presa dal «De re metallica», pubblicato dal tedesco Georgius Agricola (1494-1555) a Basilea nel 1556 con una foto di un mo-

Confronto tra un impianto chimico batch *del 1556 e uno moderno.*

Un esempio di microreattore con larghezza attorno ai 10 cm.

derno impianto *batch*. Da tale confronto si può dedurre come la tecnologia di base non sia molto cambiata in cinque secoli, sottolineando la necessità di un adeguamento delle metodologie di processo alle nuove esigenze che riguardano non solo l'alta produttività, ma anche l'ecocompatibilità di processo.

I microreattori

Negli ultimi anni lo sviluppo di metodi di produzione ecosostenibili ha ricevuto un notevole impulso dalle tecnologie in continuo. In primo luogo, sfruttando le conoscenze perfezionate nel settore della chimica industriale, sono stati realizzati dei sistemi che permettono la sintesi di prodotti chimici in flusso mediante l'impiego dei cosiddetti "letti catalitici", ma in seguito, specie nell'ultimo decennio, si è assistito al sopravvento dei microreattori che, in quanto tali, sono prerogativa della sintesi di prodotti più elaborati. Si tratta di apparecchiature microstrutturate in cui le trasformazioni chimiche avvengono in uno spazio molto limitato.
Sostanzialmente un microreattore consiste in un sistema di canali di diametro solitamente inferiore al millimetro, incisi sulla superficie di piastre di differenti materiali come silice, quarzo, vetro, ceramica o polimero. La piastra così incisa viene sigillata con una seconda piastra speculare con precisione ingegneristica, trasformando la rete di microcanali in una di microtubi. Tali sistemi permettono l'efficiente miscelazione nel tempo e nello spazio di fluidi, al fine di favorire la reazione chimica desiderata. La

Schema dei moti convettivi in un ipotetico reattore batch *riscaldato dal basso (frecce rosse).*
Il calore viene perso attraverso la superficie del mix di reazione (frecce blu).
In tal caso, in assenza di un'opportuna miscelazione, possono crearsi gradienti di temperatura che talvolta favoriscono la creazione di sottoprodotti.

produzione di questi congegni ha beneficiato dei progressi tecnologici fatti nel campo della microlitografia, tuttavia un microreattore può essere inteso anche come un sottile tubo di metallo, vetro, PVC o teflon attraverso il quale viene fatto scorrere un fluido tramite l'ausilio di una pompa.

Un primo brevetto fu registrato nel 1986, già allora descriveva le caratteristiche peculiari di un microreattore a flusso e le ragioni per le quali un tale sistema avrebbe dovuto essere costruito. Tuttavia i primi progetti per il loro utilizzo nella pratica furono presentati più tardi, nel 1995, in un seminario a Mainz (Germania) che può essere considerato il punto di partenza per il futuro della ricerca e sviluppo in questo settore. La successiva diffusione delle conoscenze al mondo industriale e accademico è stata rapida e oggi sono disponibili svariati microimpianti a flusso continuo per la conduzione di processi chimici, in particolare per la sintesi organica.

Fondamentali parametri di processo come la pressione, la temperatura, il tempo di reazione e la velocità di flusso possono essere molto più facilmente controllati in reazioni che avvengono in piccoli volumi. Così il rischio di surriscaldamenti o esplosioni, connesso con reazioni fortemente esotermiche, può essere drasticamente ridotto. I piccoli quantitativi in gioco permettono di utilizzare con maggior sicurezza anche le sostanze tossiche.

A questo punto il lettore più curioso si starà chiedendo in che modo un contenitore, per quanto elaborato, possa favorire significativamente il procedere di una reazione chimica. Per chiarire questo dubbio occorre prendere in considerazione due concetti fondamentali: il trasferimento di massa e il trasferimento di calore.

Una reazione avviene, come noto, quando i reagenti si urtano in maniera efficace, ovvero quando la collisone tra le molecole ne crea altre, portando alla formazione dei prodotti. Per rendere probabile tale evento è necessario che si abbia un efficiente trasferimento di massa e di calore all'interno del nostro reattore. A livello molecolare la temperatura è direttamente correlata con l'energia cinetica delle particelle, pertanto il riscaldamento favorisce il progredire di una reazione in quanto aumenta il numero di urti utili, la stessa cosa si ottiene aumentando la concentrazione dei reagenti.

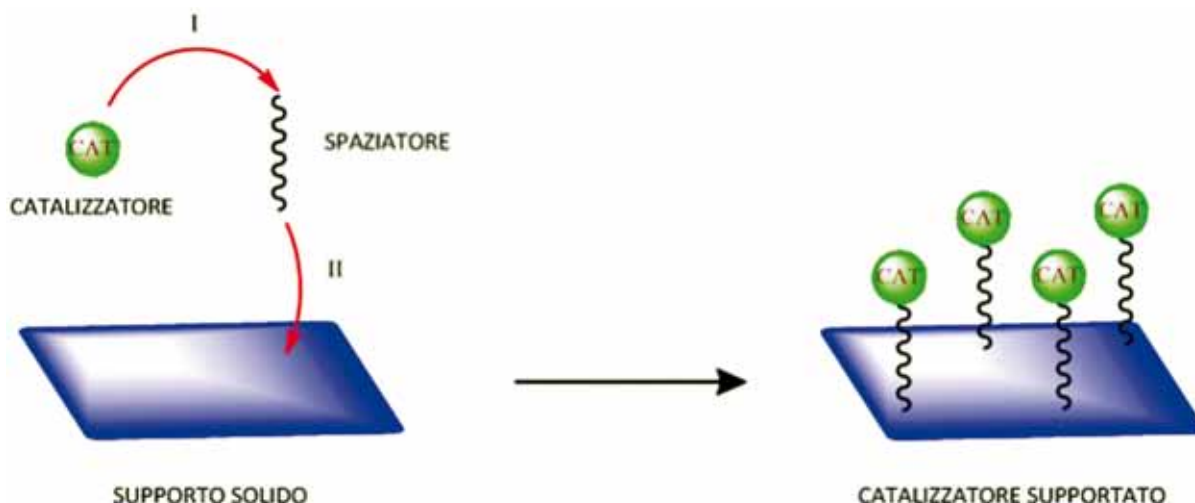
Il trasferimento di massa, in un reattore classico, è agevolato dalla pratica millenaria dell'agitazione, in realtà quello che può apparire come un metodo ininfluente sull'andamento di reazione è in grado di provocare effetti notevoli. Il rimescolamento scorretto ad esempio, può causare delle turbolenze all'interno del reattore, generando una miscelazione disomogenea che inibisce parzialmente il trasferimento di massa ed è, purtroppo, un problema di difficile soluzione.

Il trasferimento di calore avviene solitamente grazie ai moti convettivi che si originano all'interno dei fluidi; nei grandi reattori si vengono a creare aree con temperature disomogenee e gradienti che favoriscono la formazione di sottoprodotti - la quale può essere favorita da temperature diverse da quella ideale per la conversione desiderata - soprattutto nelle reazioni più sensibili al controllo cinetico e termodinamico.

Questi due parametri, se non correttamente monitorati, possono favorire la formazione dei cosiddetti *hot spot*s, ovvero quei punti "caldi" con proprietà chimico-fisiche diverse dal resto della miscela, all'interno dei quali possono avvenire processi indesiderati.

Al contrario le dimensioni ridotte, le forme e i percorsi appositamente studiati nei canalini dei microreattori da una parte permettono un rapido ed efficace mescolamento dei fluidi, portando ad un migliore trasferimento di massa, e dall'altra, grazie al notevole rapporto superficie/volume, favoriscono un ottimale trasferimento di calore, mantenendo pressoché costante la temperatura all'interno di tutto l'ambiente di reazione.

Partendo da questi presupposti sono state identificate tre classi di reazioni per le quali un processo a flusso continuo in un microreattore risulta essere notevolmente vantaggioso:

Nel processo di nitrazione del toluene (vedi pagina seguente) si ottiene fondamentalmente una miscela di quattro prodotti. A partire da sinistra troviamo le forme monostostituite 4-nitrotoluene (1-metil-4-nitrobenzene) e 2-nitrotoluene (1-metil-2-nitrobenzene), poi il 2,4-dinitrotoluene (1-metil-2,4-dinitrobenzene) e il 2,4,6-trinitrotoluene (2-metil-1,3,5-trinitrobenzene). Quest'ultimo, più noto come tritolo o TNT, è altamente tossico e viene usato comunemente come esplosivo ad uso bellico e industriale, talvolta è anche impiegato quale reagente nei processi di sintesi.

Immobilizzazione di un catalizzatore solubile. Viene prima legato chimicamente ad una catena di atomi (fase I), detta spaziatore, a sua volta fissata su un opportuno supporto solido (fase II).

1. ***Reazioni particolarmente veloci (meno di 1 secondo).*** Richiedono specie altamente reattive come cloro, bromo, acido cloridrico o composti organometallici (come quelli di Grignard) e, solitamente, sono condotte a basse temperature. La corretta miscelazione dei reagenti è un parametro fondamentale.
2. ***Reazioni veloci (tra 1 secondo e 10 minuti).*** Si svolgono sotto controllo cinetico, per cui è essenziale un corretto trasferimento di calore al fine di evitare la formazione di gradienti di temperatura che causano una notevole perdita di selettività.
3. ***Reazioni lente (più di 10 minuti).*** L'utilizzo di microreattori non produce un significativo miglioramento delle prestazioni dal punto di vista cinetico, ma riduce sensibilmente il rischio chimico diminuendo il volume dei reattivi.

Gli esempi di reazioni condotte in microreattori sono già molto numerosi, con performance notevoli fin dai primi utilizzi: la produttività, ad esempio, può raggiungere l'ordine dei chilogrammi, come nel caso della sintesi del pirrolo, un importante precursore di numerose molecole d'interesse farmaceutico.

Uno dei processi più studiati è sicuramente la nitrazione di composti aromatici, reazione fortemente esotermica e alla base della produzione di un importante esplosivo come il tritolo (trinitrotoluene). Quando viene effettuata la nitrazione del toluene in *batch* si assiste, anche in scala ridotta, ad un aumento della temperatura di reazione di oltre 50 °C. Coi microreattori è stato misurato un incremento corrispondente di appena 5 °C, un notevole vantaggio sia per quanto riguarda il controllo chimico che in termini di sicurezza. Inoltre ciò permette un miglioramento del 20% della resa in prodotto di mononitrazione, mentre i sottoprodotti polimerici vengono quasi del tutto eliminati.

Molti prodotti di grande valore sono sintetizzati mediante processi a flusso continuo come peptidi, polisaccaridi, oligonucleotidi e composti instabili, quali intermedi e molecole naturali complesse. La sintesi di tali composti mediante questa tecnologia presenta diversi vantaggi, i quali riguardano in particolare l'automazione, la riproducibilità, la sicurezza e l'affidabilità. Una caratteristica importante delle operazioni in flusso continuo è il controllo totale delle condizioni operative che garantisce valori ottimali e costanti per parametri di reazione quali la temperatura, il tempo, la quantità di reagenti e di solventi. Diviene così possibile produrre *in situ* intermedi pericolosi e altamente reattivi che vengono immediatamente trasformati nei prodotti finali, più stabili, evitando il manifestarsi di reazioni collaterali indesiderate.

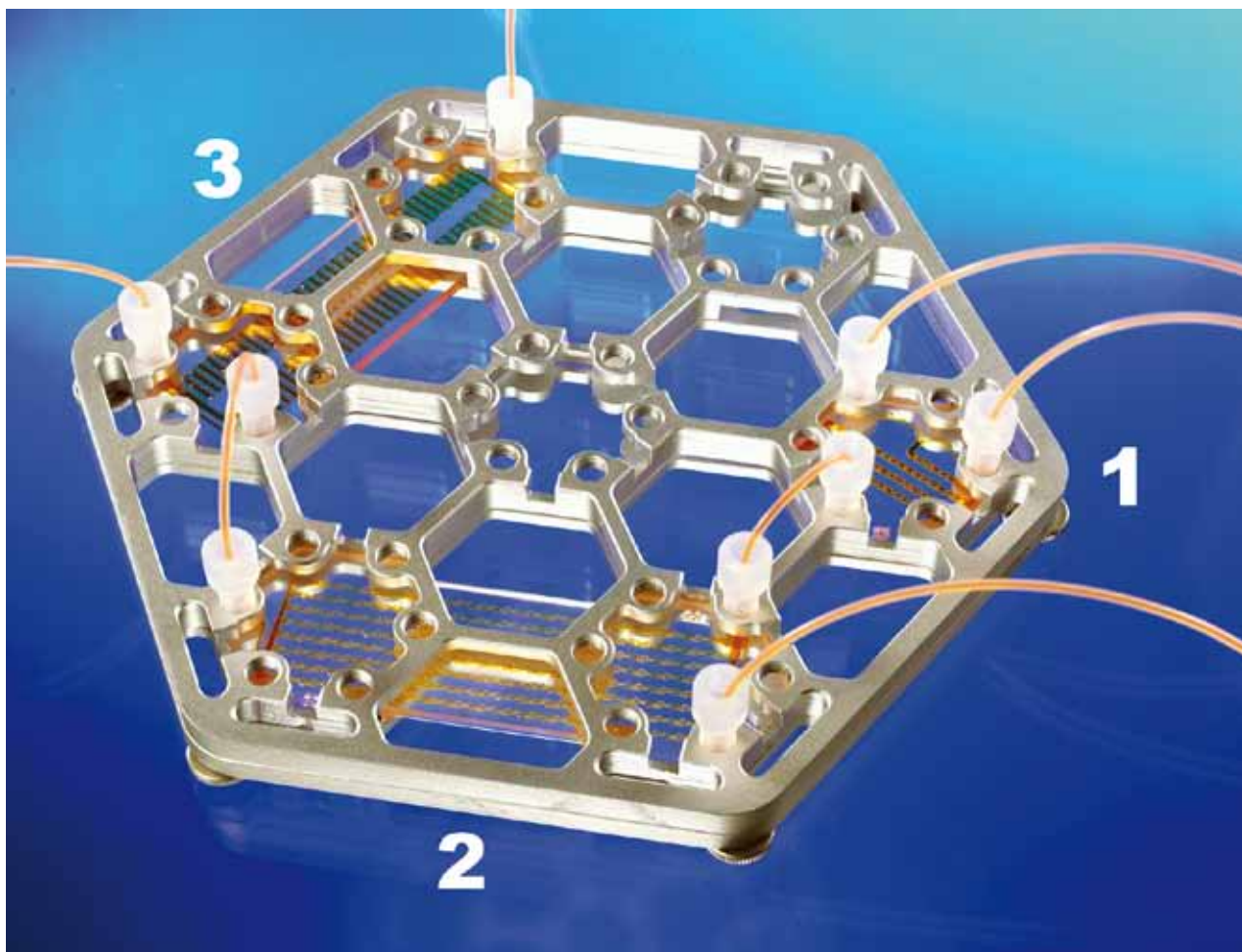
Nel caso di reazioni che necessitano di catalisi, le conversioni a flusso continuo in fase liquida possono essere realizzate immobilizzando (su opportuni materiali) il catalizzatore solubile nel mezzo di reazione, trasformandolo di fatto in un catalizzatore eterogeneo. Il fine è quello di favorirne il riutilizzo e permettere un accurato monitoraggio del decorso della reazione, per evidenziare eventuali interferenze dovute a variazioni del microambiente che circonda il supporto.

Le prospettive dei microreattori

Nel campo della chimica fine e farmaceutica, come già sottolineato, le tecniche a flusso continuo sono state intensamente studiate e applicate con notevole successo. Uno straordinario risultato in questo settore è la messa a punto delle cosiddette *synthesis machines,* costituite da combinazioni di microreattori a flusso, disposti in serie o in parallelo, nei quali è possibile realizzare la sintesi di molecole target complesse, mediante una conveniente sequenza di step che si realizzano specificamente all'interno di ciascun reattore. La loro opportuna combinazione permette anche di controllare il corretto assemblaggio dei vari "mattoni" prodotti dalle sintesi. Inoltre è facile immaginare come questi sistemi si prestino all'automazione, potendo essere pilotati e controllati dal computer mediante appositi software. Oggi, a seguito dei continui sviluppi, sono disponibili in commercio microimpianti multiuso montati su carrello mobile con produttività che arrivano persino alle 1.500 tonnellate all'anno.

Guardando all'enorme varietà di reazioni usate nella chimica organica è chiaro come le potenzialità di questa tecnologia siano enormi, attualmente, infatti la microreattoristica e la microimpiantistica costituiscono un settore interdisciplinare di cui si occupano chimici e ingegneri. Ancor oggi, le maggiori applicazioni sono nel campo della ricerca, ma gli sviluppi futuri potranno portare ad una vera e propria rivoluzione nella produzione dei cosiddetti *fine chemicals* e dei prodotti farmaceutici. Comunque è ormai diffusa, sia nell'ambiente accademico che in quello industriale, la convinzione che, sebbene i microreattori e i processi in flusso non potranno sostituire totalmente le metodologie *batch,* gli evidenti vantaggi e il crescente numero delle reazioni che possono essere studiate e sviluppate con queste nuove tecniche destano un sempre maggior interesse anche nel settore produttivo.

Milena Marchegiani
e Calogero Giancarlo Piscopo
Dipartimento di Chimica Organica e Industriale
Università degli Studi di Parma

Un esempio di synthesis machine *con tre microreattori disposti in serie che permettono reazioni in sequenza. Il "diametro" si aggira sui 25 cm.*

La misteriosa epidemia alimentare causata da *Escherichia coli* O104:H4 che ha sconvolto l'Europa

Il batterio "killer" che venne dal nulla

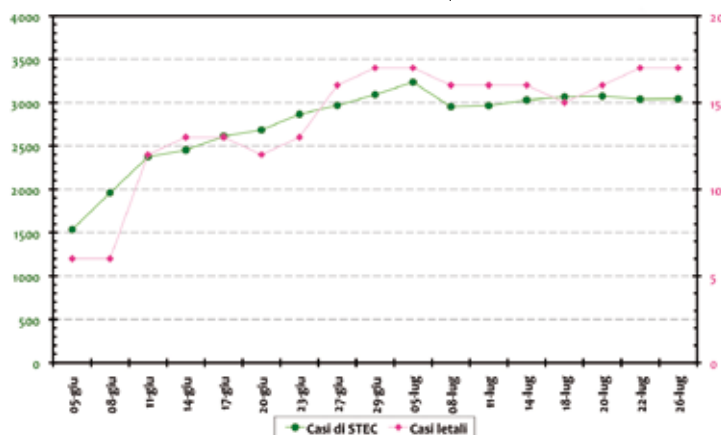
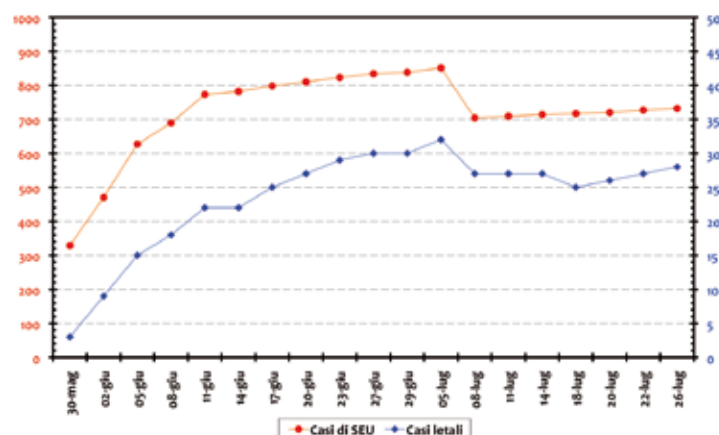
di Roberta Mazzoni

I microbi, si sa, nell'inconscio terrorizzano un po' tutti. A maggior ragione quando si ha il sospetto che possano nascondersi nel cibo che portiamo in tavola quotidianamente. Tuttavia, la paura delle infezioni alimentari raramente attanaglia i cuori di chi abita nei Paesi altamente sviluppati, come quelli benestanti dell'Europa, dove vigono norme igieniche restrittive e controlli frequenti.
Questo fino a quando la realtà non ci dimostra, invece, che i microbi non conoscono confini e che, quando si parla di un batterio "killer" di origine incerta, la semplice paura si trasforma in panico.
È quanto è successo agli inizi del giugno scorso, quando si è diffusa la notizia di un'allarmante epidemia in Germania, causata da un microrganismo particolarmente aggressivo. Vi raccontiamo cos'è successo e, soprattutto, com'è andata a finire.

Un'epidemia inattesa

È il 22 maggio. Le autorità tedesche, attraverso il sistema di allerta rapido europeo EWRS, *Early Warning and Response System,* segnalano un aumento inconsueto di casi di Sindrome Emolitico Uremica (SEU) - una rara e gravissima complicanza di alcune infezioni intestinali - e di diarrea emorragica, dovuti a particolari ceppi di *Escherichia coli,* produttori di Shiga-tossina (STEC). Sono stati registrati, infatti, fino a quel giorno, ben 138 casi di SEU, due dei quali letali. Inaspettatamente, i pazienti colpiti sono tutti adulti, con una netta prevalenza (almeno due terzi) di donne rispetto agli uomini; una particolarità questa, dal momento che questa sindrome solitamente colpisce in prevalenza bambini al di sotto dei cinque anni, senza alcuna differenza significativa tra i sessi.
Le analisi eseguite sui pazienti individuano da subito, come agente di infezione, un ceppo di *Escherichia coli,* piuttosto atipico caratterizzato dal sierogruppo O104:H4, come vedremo più avanti. L'epidemia sembra legata al consumo di alimenti contaminati, tra i quali si escludono però latte e carne.
Il 26 maggio, l'*Institute for Hygiene and Environment* di Amburgo informa di aver isolato un ceppo STEC da due campioni di cetrioli provenienti dalla Spagna; la successiva caratterizzazione esclude si tratti del ceppo incriminato.
Poco dopo, in base alle indagini epidemiologiche svolte, sia il *Robert Koch Institut* che il *German Federal Institut for Risk Assessment* (BfR) comunicano che l'epidemia sembra legata al consumo di vegetali crudi, quali cetrioli, pomodori e lattuga, e consigliano di evitarne temporaneamente il consumo, in via precauzionale.
I giorni passano e l'epidemia assume via via proporzioni davvero preoccupanti. Sul sito dell'*European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) di Stoccolma, così come su quello della *World Health Organization* (Who), si registrano quotidianamente nuovi casi. All'8 giugno, in Germania, sono 2.648 le persone coinvolte nell'epidemia, delle quali ben 689 hanno sviluppato anche la SEU; 24 fino a quel momento i decessi. Il focolaio è centrato nelle regioni del nord, dove la maggior parte dei pazienti risiede o ha soggiornato, principalmente nelle aree di Amburgo, Sassonia, Schleswig-Holstein, Northrhine-Westfalia. Casi di contagio si riportano anche in altri Paesi europei, la maggioranza dei quali, però, è riconducibile a persone che hanno visitato le località tedesche interessate dal focolaio epidemico. Sempre all'8 giugno, sono 11 le nazioni colpite con un totale di 96 casi registrati, 33 dei quali evolutisi in SEU; un decesso in Svezia, dove si conta il maggior numero di infetti dopo la Germania, 46.
I numeri dell'epidemia sembrano esplodere: solo nella giornata dell'8 giugno l'incremento dei contagi in Germania è di 323 unità; 160, 180 e 159 quello dei tre giorni successivi. Segnalazioni giungono anche dalla Svizzera (5 casi), dal Canada e dagli Stati Uniti (rispettivamente 1 e 4 casi fino all'8 giugno) e sono, comunque, per la maggioranza anche questi, legati a viaggi in Germania. Qui si è verificato il 97% dei 3.343 casi di contagio registrati al 14 di giugno, di cui ben 821 con SEU (tra sospetti e confermati), 36 i decessi. Si tratta della più grave epidemia di SEU e della seconda

Le paure degli italiani riguardo al cibo.
[Fonte: V. Arzenton, 2008].

Numero di casi di infezioni da E. coli *produttori di Shiga-tossina (STEC) senza comparsa di SEU e relativi decessi in Germania nel periodo 5 giugno - 26 luglio 2011.*

Numero di casi di Sindrome Emolitico Uremica (SEU) e relativi decessi in Germania nel periodo 30 maggio - 26 luglio 2011.

infezione da STEC di tutti i tempi, a livello mondiale.
La ricerca delle possibili cause procede senza sosta: si cerca di risalire a un alimento che possa accomunare tutti i cluster degli infettati. Via via i risultati delle indagini indirizzano verso diversi tipi di germogli provenienti da un produttore della Bassa Sassonia. Il 10 giugno, le autorità tedesche rilasciano un comunicato stampa congiunto: lo stabilimento incriminato viene chiuso, tutti i suoi prodotti ritirati dal mercato, la popolazione è invitata a non consumare germogli di alcun tipo e a non coltivarli in casa.
Dalla ditta incriminata sono prelevati centinaia di campioni, di germogli, di semi, di acqua e ambientali: il ceppo STEC O104:H4 non viene isolato da nessuno di essi. L'unico ritrovamento avviene in un sacchetto di germogli crudi, consumato, solo in parte, da una famiglia che si è ammalata.
È probabilmente grazie a tutte queste misure adottate e alle raccomandazioni fatte alla popolazione che, dalla metà di giugno, il numero di nuovi casi che sviluppano SEU va finalmente riducendosi di giorno in giorno e così anche quello dei contagiati, anche se con un andamento meno netto.

A questo punto, dalla Francia arriva un nuovo allarme: il 17 giugno, a Lille, sette bambini fra i 20 mesi e gli 8 anni di età finiscono all'ospedale con un'infezione da *E. coli* dopo aver mangiato hamburger; la carne utilizzata per la produzione proviene dalla Germania. È immediatamente panico, ma in realtà, le analisi microbiologiche escludono categoricamente che i due cluster siano in qualche modo legati: il ceppo isolato da questi bambini è, infatti, molto più comune, si tratta di *Escherichia coli* O157:H7.
La speranza che il focolaio possa rimanere circoscritto alla sola Germania svanisce, però, molto presto. Passa solo una settimana e il 24 giugno, mentre in Germania il numero di contagiati arriva a 3.688 (con 42 decessi), la Francia riporta un focolaio di otto persone ricoverate per diarrea emorragica e SEU nella zona di Bordeaux; al 28 di giugno i casi salgono a 15. Tra questi, ben 11 persone dicono di aver partecipato a un evento sociale nella giornata dell'8 giugno, in un centro ricreativo nel comune di Bègles, proprio nei pressi di Bordeaux. Le analisi questa volta non lasciano dubbi: dai pazienti francesi si isola un ceppo di *E. coli* di sierotipo O104:H4, assolutamente indistinguibile da quello associato all'epidemia tedesca.
A questo punto è evidente che il batterio "killer" non conosce confini. Deve esserci un'origine comune che lega i due focolai epidemici.

DALL'INFORMAZIONE AL PANICO, UNA QUESTIONE ASSAI DELICATA

L'editoriale della prestigiosa rivista *Nature* del 16 giugno 2011 spara a zero sulle modalità di comunicazione del rischio adottate dalla Germania durante l'epidemia. Mentre tecnici hanno mostrato un altissimo livello di competenza scientifica, lo stesso non si può dire per chi era deputato a divulgare le informazioni alla popolazione: i consumatori tedeschi - prosegue l'articolo - sono stati traumatizzati dalle notizie contraddittorie che venivano giornalmente diramate dalle tante, troppe, autorità coinvolte.

La "comunicazione del rischio" non è affatto materia semplice. Il primissimo sospetto sulla partita di cetrioli spagnoli ha messo in ginocchio l'intero comparto produttivo del Paese. Poi è venuta la volta della soia, quindi quella dei pomodori e della lattuga, di origine incerta. Sotto accusa anche la filiera del biologico. La Commissione europea ha disposto misure di sostegno straordinario per gli agricoltori danneggiati dalla crisi di mercato, stanziando 150-200 milioni di euro di aiuti.

Ma, d'altro canto, come si potevano tacere i sospetti nel corso di un'epidemia così violenta e dalle conseguenze non di rado letali?

Quello che l'editoriale di *Nature* critica maggiormente è la mancanza, in Germania, di un unico ente deputato a gestire la comunicazione in episodi così gravi. In effetti, sono situazioni come questa che mostrano la necessità di avere un'agenzia nazionale che si occupi in esclusiva, con grande competenza, di questo aspetto così delicato e spesso trascurato. Una *Food Standard Agency* come quella britannica, per intenderci, che aiuti anche i giornalisti, non sempre adeguatamente preparati a trattare temi medico-scientifici così complessi.

La specie Escherichia coli

Escherichia coli è un batterio molto comune, denominato originariamente *Bacterium coli,* isolato nel 1885 da feci di neonato da Theodor Escherich. Nell'uomo e in altri animali a sangue caldo fa parte della cosiddetta "microflora intestinale", quindi, non solo è innocuo, ma assai utile dal momento che agisce come baluardo difensivo contro la colonizzazione dell'intestino da parte di forme patogene e concorre a sintetizzare quantità apprezzabili di vitamine.
Le caratteristiche più tipiche di questa specie, ben note a chi ha avuto a che fare con qualche testo di microbiologia, sono riportate nella tabella seguente.
Non essendo un batterio di natura ambientale, il suo ritrovamento nelle acque e negli alimenti viene associato a contaminazione fecale, diretta o indiretta, ed è indice della possibile presenza di agenti enteropatogeni. Per questo la sua concentrazione nell'acqua (destinata al consumo umano, di balneazione ecc.) e in molti alimenti viene limitata per legge.
Già nel 1920, fu scoperto che *Escherichia coli* poteva, occasionalmente, causare gastroenteriti con una mortalità piuttosto importante soprattutto tra i neonati. In effetti, gli studi compiuti dalla metà degli anni Quaranta in poi hanno evidenziato che tra i ceppi di questa specie, molto diffusa, ve ne sono alcuni patogeni per l'uomo, in grado di provocare malattie intestinali di diversa gravità. Essi si suddividono, in base al loro meccanismo d'azione, in gruppi chiamati "patotipi", normalmente identificati con le loro sigle anglosassoni:

- EPEC - *E. coli* enteropatogeni;
- ETEC - *E. coli* enterotossinogeni;
- EIEC - *E. coli* enteroinvasivi;
- EHEC - *E. coli* enteroemorragici;
- EAEC - *E. coli* enteroaggregativi.

I primi quattro, sono quelli più frequentemente implicati in episodi di tossinfezioni alimentari; i principali sintomi delle gastroenteriti da essi causate sono riassunte nella tabella seguente.
Da un punto di vista sierologico, tutti i ceppi di *E. coli,* patogeni e non, si possono invece classificare sulla base di antigeni somatici (O), flagellari (H) e capsulari (K); quando si parla di un *E. coli* O157:H7 oppure O104:H4 ci si riferisce proprio a questa classificazione. Normalmente i diversi sierotipi presentano un ben preciso meccanismo di azione e, pertanto, rientrano nei diversi patotipi senza sovrapposizio-

Theodor Escherich (Ansbach, 1857 – Vienna, 1911), medico e batteriologo austro-tedesco.

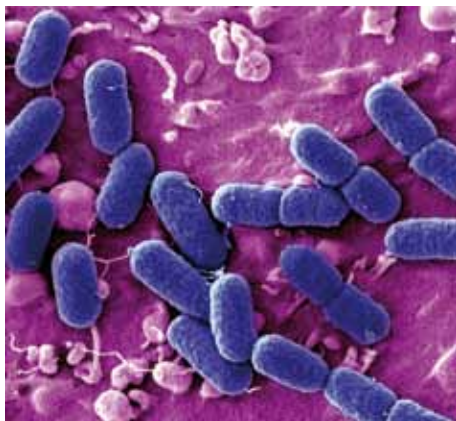
Principali caratteristiche della specie *Escherichia coli*

Genere	Escherichia
Specie	Escherichia coli
Famiglia	Enterobacteriaceae
Morfologia	corti bastoncelli (0,5 x 2,0 µm ca.), mobili
Utilizzo O_2	anaerobio facoltativo
Colorazione di Gram	negativo
Test dell'ossidasi	negativo
Test della catalasi	positivo
Metabolismo	utilizza semplici fonti di carbonio, tra cui glucosio e acetato, fermenta gli zuccheri esosi trasformandoli in acidi e CO_2

Sintomi delle infezioni causate da alcuni patotipi di *E. coli*

Patotipo	*Tempo d'incubazione*	*Durata malattia*	*Principali sintomi*
EPEC enteropatogeni	17-72 ore	da 6 ore a 3 giorni	Diarrea, nausea, crampi addominali, vomito, mal di testa, febbre, brividi. La diarrea è acquosa con molto muco ma senza sangue.
ETEC enterotossinogeni	8-44 ore	da 3 a 19 giorni	Diarrea acquosa, febbre lieve, crampi addominali, malessere, nausea. Nella forma più severa ricorda il colera, con un'abbondante diarrea a grani di riso che porta alla disidratazione.
EIEC enteroinvasivi	8-24 ore	da alcuni giorni a settimane	Abbondante diarrea o dissenteria, brividi, febbre, mal di testa, mialgia, crampi addominali. Le feci spesso presentano muco e tracce di sangue.
EHEC enteroemorragici	3-9 giorni	da 2 a 9 giorni	Colite emorragica, diarrea con molto sangue, forti crampi addominali, vomito, senza febbre. Può sfociare nella Sindrome Emolitica Uremica (SEU) che può essere letale.

Fonte: The International Commission on Microbiological Specifications for Foods

Foto a falsi colori al microscopio elettronico a scansione di E. coli *O104:H4, il ceppo che ha causato l'epidemia trattata in questo articolo. Le cellule sono lunghe circa 2 μm.*

ne; solo alcuni ceppi appartengono sia agli EPEC che agli EHEC.

Gli organismi di questa specie possiedono la capacità di acquisire facilmente e frequentemente caratteristiche genetiche da altri batteri, che possono essere sia della stessa famiglia delle Enterobacteriaceae, quindi microrganismi come *Salmonella* spp. e *Shigella* spp, sia altri ceppi di *E. coli*. Ciò avviene attraverso un meccanismo di trasferimento orizzontale di materiale genetico tipico dei batteri Gram-negativi che fa acquisire loro nuove caratteristiche fenotipiche. Ne è un noto, quanto preoccupante, esempio la diffusione della resistenza agli antibiotici.

Gli E. coli *enteroemorragici*

Il ceppo di *E. coli* che ha causato l'epidemia scoppiata in Germania nel maggio scorso è stato classificato come EHEC, enteroemorragico. I membri di questo patotipo rappresentano attualmente una delle sfide microbiologiche più impegnative per il settore alimentare, paragonabile - secondo alcuni autori - a quella rappresentata dal *Clostridium botulinum* (agente eziologico del botulismo) circa 80 anni fa.

Gli EHEC sono, infatti, naturalmente presenti nell'intestino di molti animali da allevamento, quindi piuttosto diffusi nell'ambiente. Le dosi infettanti sono basse (anche meno di 100 batteri), le infezioni possono decorrere in maniera asintomatica, ma in alcuni casi si hanno patologie estremamente gravi con complicanze irreversibili, potenzialmente letali, che colpiscono con maggior frequenza i bambini.

Crescono in un range di temperatura tra i 7 e i 50 °C, con un optimum di 37 °C. Possono svilupparsi in ambiente acido fino a un pH di 4,4 e in presenza di valori di attività dell'acqua di 0,95 (vedi *Green* n. 23, pag. 42). Sono batteri termosensibili e, pertanto, vengono facilmente distrutti dai comuni trattamenti di cottura degli alimenti (almeno 70 °C al cuore del prodotto) e di pastorizzazione.

Tra gli EHEC il più conosciuto e studiato è senz'altro l'*E. coli* O157:H7, scoperto nel 1982 e collegato a importanti episodi di tossinfezioni, nei quali gli alimenti implicati sono stati spesso latte crudo e carne non sufficientemente cotta. Il ceppo responsabile dell'epidemia di cui stiamo trattando è un EHEC con sierotipo O104:H4, non molto diffuso e poco conosciuto.

Gli *E. coli* enteroemorragici hanno come tratto più distintivo, la produzione di una o due citotossine, chiamate Shiga-tossine, perché simili prodotta dal batterio *Shigella dysenteriae,* o anche vero-tossine, perché attive su linee cellulari Vero nelle coltivazioni *in vitro*. Per tale motivo i ceppi EHEC sono noti anche come STEC (Shiga-like Toxin-producing *E. coli*) o VTEC (vero cytotoxin-producing *E. coli*), creando spesso non poca confusione e con un'approssimazione non del tutto corretta.

Oltre alla produzione delle citotossine, possono presentare altri fattori di virulenza quali:

- formazione di un fattore di adesione, detto "intimina";
- presenza di emolisina;
- produzione di una serin proteasi;
- produzione di un'enterotossina stabile al calore (EAST);
- presenza di uno speciale sistema di catalasi.

Gli STEC, dopo l'ingestione, rilasciano le tossine nel lume intestinale; qui le tossine si legano a recettori specifici situati sui villi intestinali provocandone la distruzione, da cui la diarrea che può essere spesso sanguinolenta. La distruzione dell'epitelio intestinale può favorire il passaggio in circolo delle tossine, che possono così raggiungere il loro tessuto bersaglio costituito dall'endotelio vasale del distretto intestinale e renale.

Le manifestazioni cliniche dell'infezione possono variare da una semplice forma di diarrea a una colite emorragica che può sfociare nella Sindrome Emolitica Uremica.

Le infezioni da EHEC sono considerate generalmente delle zoonosi, dal momento che questi microrganismi albergano frequentemente nell'intestino dei ruminanti, in particolare dei bovini, per i quali non risultano patogeni. Questi ultimi costituiscono, senza dubbio, il *reservoir* naturale più importante. L'uomo può infettarsi o per contatto diretto con animali portatori, oppure tramite alimenti contaminati

(all’origine o lungo la filiera produttiva) e non sottoposti ad adeguato trattamento termico. Anche alcune matrici ambientali possono fungere da vettore, come acqua o suolo contaminati, reflui zootecnici usati per pratiche di fertilizzazione/irrigazione.
Una volta acquisita l’infezione da STEC, che negli adulti può presentarsi in forma asintomatica, è frequente la trasmissione attraverso la via oro-fecale da persona a persona, o tramite la contaminazione di alimenti da parte di individui infetti. È questa la modalità di contagio più frequente per i bambini più piccoli, i quali tendono a sviluppare, come abbiamo detto, la malattia, invece, con sintomi più gravi.
Diversi alimenti sono stati, in passato, implicati in episodi di infezione da STEC, particolarmente carne non abbastanza cotta, latte crudo ma anche una varietà di prodotti freschi, come germogli, spinaci, lattuga, succhi di frutta e formaggio.

Diagramma a nastro di una Shiga-tossina tipo 2 (Stx2) di Escherichia coli *O157:H7 (STEC). Si tratta di una tossina di natura proteica formata da una subunità A (in rosso) e da una B, pentamerica (in blu). La Stx2 è presente anche nel sierotipo* E. coli *O104:H4*

La SEU, Sindrome Emolitica Uremica

La SEU è la complicanza più rara e grave che può associarsi ad un’infezione causata da *E. coli* enteroemorragici. Si stima che, normalmente, il 5-10% dei pazienti contagiati da EHEC possa sviluppare la sindrome, con una netta prevalenza di bambini sotto i cinque anni. Nonostante la sua bassa incidenza, rappresenta la causa più importante di insufficienza renale acuta nell’età pediatrica, in particolare nei primi anni di vita.
Clinicamente la SEU è caratterizzata da anemia emolitica (anormale distruzione di globuli rossi), trombocitopenia (basso numero di piastrine) e grave insufficienza renale che può richiedere il trattamento con la dialisi. Il 25-30% dei pazienti può essere interessato da complicazioni neurologiche. Nella fase acuta, può essere fatale nel 3-5% dei casi e una percentuale simile può sviluppare insufficienza renale cronica.
La SEU, come complicanza di infezioni provocate da *E. coli* STEC nell’uomo è monitorata nel nostro continente dal Sistema di Sorveglianza Europeo (TESSy) e i dati sono registrati annualmente dall’ECDC, l’*European Center for Disease Control*.
I dati mostrano un aumento dei casi di infezione STEC e di SEU passando dal 2007 al 2009 e la relativa gravità dell’episodio del 2011. I sierotipi più frequentemente isolati dai casi di SEU nello stesso triennio sono stati l’O157 e l’O26, che insieme sono i responsabili dell’86% dei casi registrati, mentre l’O104 in quel periodo non era stato riportato.
In Italia, la SEU non è soggetta a notifica obbligatoria nell’ambito del sistema di sorveglianza delle malattie infettive. Quest’attività viene svolta su base nazionale da una rete di centri di nefrologia pediatrica coordinata dal Registro Italiano della SEU, facente capo all’Iis, l’Istituto superiore di sanità, che collabora strettamente con il Laboratorio Comunitario di riferimento per l’*E. coli*, anch’esso attivo presso l’Iss.

Casi di infezione da STEC e di SEU in Europa dal 2007 al 2009 e confronto con l’epidemia del 2011

ANNO	Casi STEC	Casi SEU	Casi di STEC evolutisi in SEU	Casi letali
2007	2.905	144	4,9%	da 2 a 6
2008	3.159	148	4,7%	da 2 a 6
2009	3.573	264	7,4%	da 2 a 6
2011*	3.128	782	25,0%	46

**: dati aggiornati al 26 luglio 2011*
[Fonte: Technical Report ECDC and EFSA, June 2011]

O104:H4, un ceppo particolare e poco noto

Il ceppo di *E. coli* O104:H4 che ha causato l’epidemia, esplosa inizialmente in Germania, è stato caratterizzato dal “Laboratorio Nazionale di Riferimento per *Salmonella* e altri batteri enterici”, presso il *Robert Koch Institut* (Germania), il quale ha evidenziato caratteri assai particolari del batterio, che rendono conto delle peculiarità dell’epidemia stessa. Possiede un’inusuale combinazione di fattori di virulenza degli

E. coli STEC e di quelli enteroaggregativi (EAEC). Quest'ultima è piuttosto rara ed è stata descritta, in precedenza, solo in un ceppo con sierotipo O11:H2 responsabile di un episodio tossinfettivo decisamente limitato del 1998 che ha interessato alcuni bambini francesi. La combinazione dei fattori di virulenza sembrerebbe suggerire (qui il condizionale è d'obbligo) che il ceppo possa avere un'origine antropica anzichè animale.
Pochissimi sono i dati a disposizione sul sierotipo O104, e ancor meno su quello O104:H4, sia in Europa che nel resto del mondo. L'ECDC, nel periodo 2004-2009, ha registrato in tutta Europa solo 10 casi di infezione STEC da sierotipo O104, di cui solo due erano specificatamente O104:H4, uno in Finlandia nel 2010 e uno in Francia nel 2004. Altri due casi di infezione sono riportati in letteratura: uno in Germania nel 2001 e uno in Corea nel 2005. Il ceppo non è ancora mai stato isolato da animali o alimenti.

Schema (semplificato) della tracciabilità del lotto di semi di fieno greco n. 48088, che rappresenta il collegamento individuato tra gli episodi epidemici registrati in Francia e in Germania.
[Fonte: EFSA, Technical Report, 5 luglio 2011].

Esportazione dall'Egitto
semi di fieno greco
Quantità: 15.000 kg
Data: 24/11/2009

Importazione in Germania
Q.tà in entrata: 15.000 kg
Data: 15/12/2009
Lotto n.: 48088
(trasportato in nave
via Anversa-Rotterdam)
Q.tà immagazzinata: 75 kg
Q.tà in uscita: 15.075 kg
Lotto n.: 6832

Centro di distribuzione
e confezionamento
semi nel Regno Unito
Q.tà in entrata: 400 kg
Data: 13/01/2010
Lotto n.: 6832
Q.tà immagazzinata: 305 kg
Q.tà in uscita: 1917 x 50 g
Lotto n.: DRG1041132/10

Centro di distribuzione
in Francia
Q.tà in entrata: 1917 x 50 g
(95 kg in totale)
Data: gennaio 2011
Lotto n.: DRG1041132/10
In uscita: a circa 200 negozi
Art. n.: 06410838

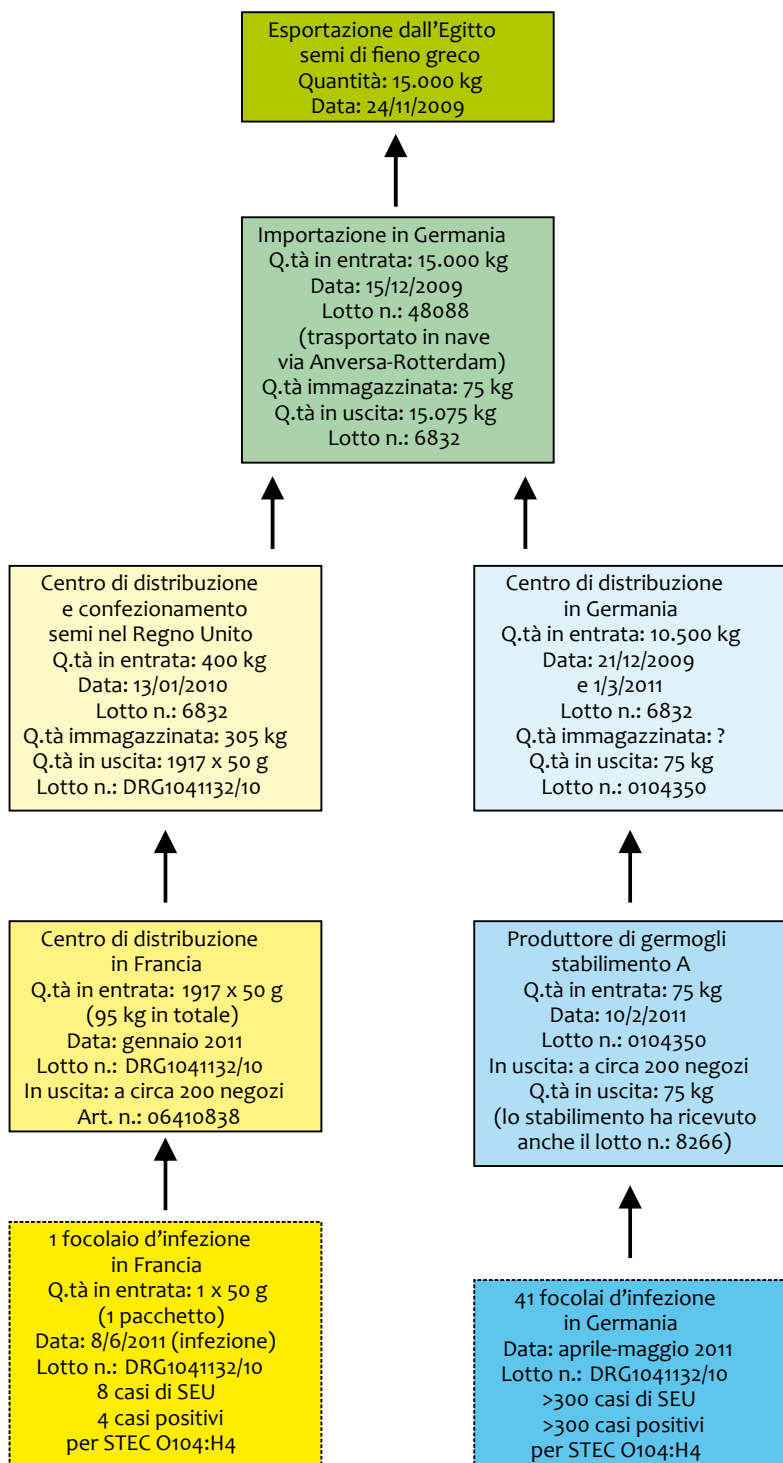
1 focolaio d'infezione
in Francia
Q.tà in entrata: 1 x 50 g
(1 pacchetto)
Data: 8/6/2011 (infezione)
Lotto n.: DRG1041132/10
8 casi di SEU
4 casi positivi
per STEC O104:H4

Centro di distribuzione
in Germania
Q.tà in entrata: 10.500 kg
Data: 21/12/2009
e 1/3/2011
Lotto n.: 6832
Q.tà immagazzinata: ?
Q.tà in uscita: 75 kg
Lotto n.: 0104350

Produttore di germogli
stabilimento A
Q.tà in entrata: 75 kg
Data: 10/2/2011
Lotto n.: 0104350
In uscita: a circa 200 negozi
Q.tà in uscita: 75 kg
(lo stabilimento ha ricevuto
anche il lotto n.: 8266)

41 focolai d'infezione
in Germania
Data: aprile-maggio 2011
Lotto n.: DRG1041132/10
>300 casi di SEU
>300 casi positivi
per STEC O104:H4

La soluzione del mistero

Torniamo all'epidemia e alla sua origine. Tra i contagiati del focolaio di Bordeaux (Francia), molti riportano di aver mangiato, nell'evento al quale hanno partecipato, germogli crudi di fieno greco, rucola e senape prodotti sul posto, in piccole quantità. I semi erano stati acquistati presso un vivaio locale specializzato che si rifornisce da un distributore con sede nel Regno Unito. In questo caso non è, dunque, implicato lo stabilimento della Bassa Sassonia che sembra, invece, all'origine del'epidemia tedesca.
Il 27 giugno l' EFSA, l'*European Food Safety Authority*, organizza una *task-force* per individuare l'origine dei germogli, ormai chiaramente identificati come la causa più probabile dell'epidemia. Tra i suoi membri vi sono funzionari ed esperti della Commissione europea, degli Stati membri interessati, dell'ECDC della Who e della Fao. L'Italia è rappresentata dalla dottoressa Gaia Scavia dell'Iss e dal dottor Giancarlo Belluzzi del Ministero della Salute.
Viene avviato uno studio di rintracciabilità di prodotto per risalire agli spostamenti lungo la filiera di produzione e commercializzazione dei vari lotti di semi fino ad arrivare al consumatore finale. Il risultato arriva presto, il 5 luglio: il collegamento più probabile tra i focolai infettivi registrati in Francia e in Germania è rappresentato da un lotto di semi di fieno greco, n°48088, prodotto in Egitto nel 2009 (vedi figura a lato). Poiché non si conosce l'esatta fase di lavorazione durante la quale il prodotto è stato contaminato, non si può escludere ciò sia accaduto anche per altri lotti.
Inoltre, poiché i semi per la produzione di germogli edibili sono spesso venduti sotto forma di miscele di essenze non è possibile escludere una contaminazione crociata. Così, in via cautelativa, viene raccomandato ai consumatori di non coltivare e di non consumare germogli di alcun tipo a livello domestico, a meno che non siano stati sottoposti ad un'accurata cottura. La relazione sottolinea che i risultati negativi dei test microbiologici effettuati sui semi

non permettono di escludere che un lotto sia contaminato.
Sulla base di queste conclusioni, l'Unione europea, con misura d'urgenza (Gazzetta ufficiale dell'Ue del 7 luglio 2011), blocca l'importazione di semi di fieno greco e altre piante e legumi provenienti dall'Egitto, sino alla fine di ottobre 2011. Inoltre, il documento invita tutti i Paesi membri a prendere le misure necessarie per ritirare dal mercato e distruggere tutte le partite di semi di fieno greco prodotte in Egitto nel periodo 2009-2011.
Non è la prima volta che il consumo di germogli vegetali crudi è all'origine di episodi di intossicazione alimentare. In passato i patogeni maggiormente coinvolti sono stati *Salmonella* spp. ed *E. coli* O157; segnalati anche *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*.
L'episodio che ha visto il più alto numero di contagiati si è verificato in Giappone nel 1996, dove dei germogli di ravanello, serviti in una mensa scolastica e contaminati da *E. coli* O157:H7, infettarono più di 8.000 persone, prevalentemente bambini.
Le pratiche agricole di coltivazione, fertilizzazione, raccolta e stoccaggio dei semi, vengono compiute in condizioni tali per cui la contaminazione dei semi stessi è assolutamente possibile; le successive fasi di germinazione si realizzano poi in condizioni ideali per la crescita di eventuali patogeni (tempo, temperatura, attività dell'acqua, pH e nutrienti).
Da un punto di vista normativo, il problema è stato affrontato già da tempo. In particolare, il documento CAC/RCP 53-2003 "Code of Hygienic Practice for Fresh Fruits and Vegetables" del *Codex Alimentarius* riporta una sezione specificatamente dedicata alla produzione di germogli.

Prospettive future

Il monitoraggio della situazione continua, ma si registrano, ormai, solo casi sporadici. Il 26 luglio il *Robert Koch Institute* dichiara ufficialmente la fine dell'episodio epidemico i cui numeri possono considerarsi definitivi: più di 4.000 i contagiati, oltre 800 le persone che hanno sviluppato SEU, 47, purtroppo, i morti.
Mentre gli scettici sollevano dubbi sulla risoluzione della vicenda che, comunque, è sparita da tempo dalle pagine dei giornali, tra gli esperti il livello di attenzione rimane alto e il monitoraggio continua. In particolare, preoccupa l'alta incidenza di casi di infezioni asintomatiche riscontrata tra gli alunni e gli operatori di una scuola di Paderborn, in Germania, dove erano stati registrati alcuni soggetti ammalati. Infatti l'esistenza di questi portatori sani rende più probabile il contagio interpersonale o la contaminazione da individuo ad alimento.
In particolare le autorità sono preoccupate per lo svolgersi delle numerose manifestazioni estive - come le sagre e i festival - dove, generalmente, i livelli igienici lasciano un po' a desiderare. Ciò potrebbe favorire il riaccendersi di focolai d'infezione. Come ha scritto qualcuno, il batterio "killer" potrebbe non andare in vacanza.

Roberta Mazzoni
Divulgatrice scientifica
Master in Diffusione della Cultura Scientifica
Università Ca' Foscari Venezia (A.A. 2007/2008)

Casi di epidemie alimentari dovute a consumo di germogli

Paese	*Anno*	*Pianta*	*Agente eziologico*	*Casi registrati*
Regno Unito	2010	fagioli	*Salmonella bareilly*	213
Svezia	2007	alfa alfa	*Salmonella stanley*	44
Usa	2003	alfa alfa	*E. coli* O157	13
Usa	1999	alfa alfa	*Salmonella muenchen*	157
Usa (California)	1996-1998	alfa alfa	*E. coli* O157:H	600
Giappone	1996	ravanello	*E. coli* O157:H7	8.358
Svezia, Finlandia	1994	alfa alfa	*Salmonella bovismorbificans*	492

[Fonte: Iss e Who]

LA TRACCIABILITÀ DELLE PRODUZIONI ALIMENTARI

Un aspetto importante della sicurezza alimentare è la *tracciabilità* - definita dal Regolamento Ce 178/2002 - come "la possibilità di ricostruire e seguire il percorso di un alimento, di un mangime, di un animale destinato alla produzione alimentare o di una sostanza destinata o atta ad entrare a far parte di un alimento o di un mangime attraverso tutte le fasi della produzione, della trasformazione e della distribuzione".

Lo scopo è quello di far sì che tutto ciò che entra nella catena alimentare (mangimi, animali vivi destinati al consumo umano, alimenti, ingredienti, additivi ecc.) conservi traccia della propria storia lungo ogni punto della filiera produttiva, dall'origine delle materie prime fino alla distribuzione e al consumo.

Le registrazioni tenute per legge dai vari operatori dell'industria agroalimentare e zootecnica (origine delle materie prime, distribuzione dei propri manufatti ecc.) consentono a loro stessi e/o agli organi di controllo di ritirare immediatamente lotti potenzialmente contaminati in ogni fase della produzione e commercializzazione, salvaguardando quanto più possibile il consumatore.

Fino al 2005 erano rintracciabili solo carni, pesce e uova, cioè gli alimenti più a rischio per la salute. Dal 1 gennaio 2006, con l'entrata in vigore del cosiddetto Pacchetto Igiene, l'obbligo della rintracciabilità è stato esteso a tutti i prodotti agroalimentari.

La materia di cui è fatto l'universo è in maggior parte invisibile

Col termine "materia oscura" gli astrofisici indicano la materia che non emette alcun tipo di radiazione elettromagnetica. Essa appare, quindi, invisibile ai nostri occhi e ai vari telescopi e spettroscopi orbitanti o spaziali. La sua esistenza non è comunque messa in discussione, è provata da osservazioni indirette ed è predetta da diverse teorie per poter spiegare alcune caratteristiche dell'universo. Le ipotesi oggi più accreditate affermano che quest'ultimo sia formato per oltre il 95% da materia oscura. In questo articolo cerchiamo di fare "luce" assieme su questo ennesimo mistero del cosmo.

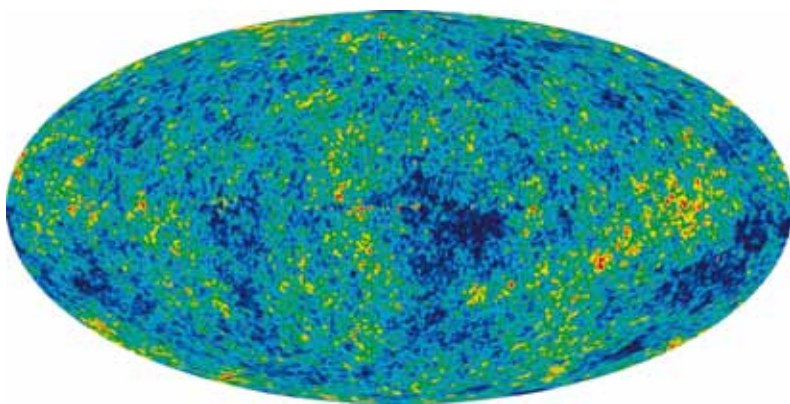
Alla scoperta della materia oscura

di Antonio Loquercio
e Fulvio Zecchini

Non si vede, ma c'è

Non sempre si può applicare il metodo scientifico classico in maniera ortodossa, partendo dall'osservazione di un fenomeno per giungere alle conclusioni sulla validità di un'ipotesi, ad esso correlata, attraverso l'osservazione e le prove sperimentali. Ne è un classico esempio l'astrofisica che spesso deve basare le sue teorie su prove indirette. Certo quelle sulla "materia oscura" sono divenute più affidabili negli ultimi quarant'anni, grazie al miglioramento della tecnologia degli strumenti d'indagine e all'accumularsi delle conoscenze. Nonostante sia invisibile, dato che non emette radiazione elettromagnetica, vi sono diverse valide indicazioni in merito alla sua esistenza.
In primo luogo la velocità delle stelle in una galassia a spirale, come la nostra Via Lattea. Alcune considerazioni della meccanica di questo particolare moto orbitante prevedono che la velocità tangenziale tipica di ogni stella decresca all'aumentare della distanza dal centro della galassia. In realtà alcuni metodi di osservazione indiretta hanno evidenziato l'esatto contrario, e la spiegazione più accreditata coinvolge la presenza di materia non visibile diffusa nell'alone di ognuna delle galassie. Un ulteriore indizio è rappresentato degli accumuli di gas che spesso vengono osservati ai loro confini, i quali non potrebbero essere trattenuti dalla forza gravitazionale se la loro massa fosse dovuta solo alla presenza della materia visibile. Un fenomeno simile avverrebbe per il moto delle galassie negli ammassi, esse non potrebbero essere forzate ad orbitare intorno al centro del cluster e sarebbero in grado di sfuggire.
Ancora, come vedremo nell'immagine riportata alla fine di questo articolo, negli ultimi anni la Nasa è riuscita anche a mappare la materia oscura in alcuni ammassi galattici giganti, basandosi sull'interazione tra forza di gravità e radiazione elettromagnetica. Infatti, la deviazione di quest'ultima mentre viaggia attraverso le galassie, per venire poi registrata dai telescopi spaziali, non è spiegabile con la sola massa della materia visibile.

La navicella russa Soyuz (a sinistra) e lo Shuttle Atlantis (a destra) sono attraccati all'Iss, la Stazione spaziale internazionale. La foto è stata scattata il 12 luglio 2011 durante l'ultima missione del Programma Space Shuttle della Nasa.
In primo piano è visibile l'Alpha Magnetic Spectrometer (AMS) installato sull'Iss durante il viaggio precedente dell'Atlantis. Si tratta di un detector di particelle di ultima generazione, dedicato alla ricerca sull'antimateria e sulla materia oscura, oltre che alla misurazione dei raggi cosmici.
[Immagine: Nasa]

Foto computerizzata della sonda WMAP. Ha viaggiato per anni nello spazio profondo alla scoperta dei più grandi misteri del cosmo, permettendo agli scienziati della Nasa di apprendere molte informazioni sulla forma, la storia e il destino dell'universo.
[Immagine: Nasa/WMAP Science Team]

Fluttuazioni di temperatura della radiazione cosmica di fondo nel campo delle microonde rivelata dalla sonda WMAP della Nasa (Wilkinson Microwave Anisotropy Probe). In questa mappa del cielo a falsi colori, ottenuta combinando i dati raccolti in sette anni di osservazioni, sono rappresentate fluttuazioni avvenute circa 13,7 miliardi di anni fa. Le aree rosse indicano le zone più calde, quelle blu le più fredde; si tratta di piccole variazioni di ±200 microkelvin rispetto alla temperatura media del cosmo (circa 2,73 kelvin).
[Immagine: Nasa/WMAP Science Team]

Quanto sopra esposto dimostra, ancorché in via indiretta, l'esistenza della materia oscura. Mentre quella con cui siamo abituati a interagire è costituita da neutroni e protoni (viene detta "barionica"), diversi studi indicano che solo una frazione di quella invisibile abbia questa natura - nane bianche, stelle di neutroni (vedi anche *Green* n. 23, pagg. 17-23), pianeti, nubi di gas – essendo, invece, la maggior parte non barionica. La prima particella di questo tipo ad essere stata studiata è il *neutrino* la cui massa, però, è molto piccola: anche moltiplicandola per il loro enorme numero nell'universo, si ottiene un contributo alla massa totale di poco inferiore a quello della materia visibile. Inoltre la loro velocità, prossima a quella della luce, e la capacità di attraversare la materia, li rende incapaci di interagire con "oggetti" che viaggiano decisamente più lentamente. Quindi è necessario ipotizzare che negli aloni delle galassie vi siano particelle di massa relativamente grande che si muovono con una tipica "velocità galattica", pari a circa un millesimo di quella della luce. I fisici cercano da tempo di produrre tali particelle negli acceleratori ad alta energia, come quello di recente costruzione del CERN di Ginevra, ma finora non vi sono riusciti, il che potrebbe implicare che esse abbiano massa relativamente elevata. Nonostante ciò, i fisici hanno osservato o ipotizzato sulla base di evidenze indirette l'esistenza di diversi tipi di particelle non barioniche (vedi box). Non abbiamo qui modo di approfondire questo argomento a cui dedicheremo più spazio in uno dei prossimi numeri di *Green*.

Possibili strutture alternative dell'universo previste in base al valore del parametro di densità Ω_0. In caso di universo chiuso con espansione e, quindi, dimensione finita ($\Omega_0 > 1$), un'astronave che viaggiasse abbastanza a lungo in una stessa direzione si troverebbe a tornare prima o poi nel punto di partenza. Ciò non avverrebbe mai nel caso di universo piatto ($\Omega_0 = 1$) o aperto con forma iperbolica ($\Omega_0 < 1$), entrambi in continua espansione.
[Immagine: Nasa]

L'universo è fatto di materia oscura

Per poter capire quanta materia oscura ci sia nell'universo bisogna innanzitutto tenere a mente la nota equazione della relatività ristretta $E = mc^2$, la quale afferma che l'energia è proporzionale alla massa, esse in pratica coincidono, potendo convertirsi l'una nell'altra. Dobbiamo poi introdurre il parametro *omega* (più precisamente: *omega zero*, Ω_0) che diverse teorie correlano alla geometria e all'espansione dell'universo. Esso è pari al rapporto tra la *densità dell'universo* e un valore specifico chiamato *densità critica,* cioè la minima densità di massa dell'universo che lo renderebbe "chiuso". Se omega ha valore maggiore di 1, allora l'universo ha densità superiore a quella critica, la sua geometria è sferica ed esso si espanderà fino a un certo punto per poi collassare su se stesso (universo chiuso). Se Ω_0 è pari a 1, l'universo ha densità critica e geometria euclidea e si espanderà per sempre (universo piatto). Infine, se *omega* è minore di 1, l'universo ha densità inferiore a quella critica, si espanderà all'infinito e la sua geometria risulta iperbolica (universo aperto).
I cosiddetti *modelli cosmologici inflazionari* prevedono un valore di *omega zero* pari ad 1, essi ipotizzano che l'universo nei primi attimi di vita dopo il Big-Bang (circa 10^{-35} s dopo) abbia subito una rapidissima espansione, crescendo istantaneamente di un fattore 10^{50}. Poiché la quantità di materia visibile determinerebbe una densità per la quale *omega zero* varrebbe solo 0,005, un valore pari a 1 implicherebbe che il restante 95,5% della densità dell'universo sia dovuto alla materia oscura. D'altra parte, per trattenere le stelle nelle galassie e confinare queste ultime negli ammassi, regolando quindi il moto degli astri, serve una quantità di materia totale (visibile + oscura) pari al 35% della densità critica dell'universo, che potrebbe essere costituita come segue:

- materia barionica visibile: 0,5%;
- materia barionica invisibile: 4,0%;

- neutrini: 0,5%;
- materia non barionica (ad es. neutralini): 30,0%.

Inoltre, in accordo con il risultato di altri studi, il recente esperimento WMAP della Nasa ha evidenziato che le piccole fluttuazioni nella temperatura della radiazione cosmica di fondo presentano proprio le caratteristiche attese nel caso che l'universo abbia densità energetica uguale a quella critica ($\Omega_0 = 1$).

L'energia oscura

Nell'ipotesi sopra citata c'è un 65% della densità dell'universo (dati recenti nella Nasa, riportano il 70% circa) che non è determinato né dalla materia luminosa, né da quella oscura, ma parrebbe essere dovuto alla presenza di *energia oscura*.
Studi del 1998 condotti su alcune supernove di galassie lontane hanno evidenziato che il cosmo si espande con velocità in continuo aumento. Si ipotizza, che fino a otto miliardi di anni fa circa, la gravità fosse la forza dominante in un universo ancora sufficientemente piccolo per poterne rallentare l'espansione. In seguito, le dimensioni aumentarono fino a che una misteriosa forza "oscura" repulsiva divenne quella dominante, risultando in un'accelerazione del processo di espansione: tale forza potrebbe essere generata proprio dall'energia oscura.
Una delle teorie più accreditate riporta che questo effetto repulsivo sia riconducibile al vuoto. Nella fisica moderna infatti, quest'ultimo non corrisponde al nulla assoluto filosofico. Dal *principio d'indeterminazione di Heisenberg*, che sta alla base della meccanica quantistica, deriva che possono formarsi e subito scomparire coppie di particelle-antiparticelle, la cui esistenza è brevissima e in pratica virtuale. L'annichilazione materia/antimateria che ne consegue crea energia e ciò permette al vuoto di avere una densità di energia oscura diversa da zero ed esercitare una forza con effetto gravitazionale repulsivo.
La nostra missione alla ricerca della materia e dell'energia oscura è limitata dall'inadeguatezza dei nostri mezzi di esplorazione attuali: le varie ipotesi sopra riportate sono basate su numerose evidenze indirette che bastano per poter considerare reale la loro esistenza. In un futuro prossimo saranno sicuramente sviluppati modelli cognitivi più affidabili, grazie anche alle nuove tecnologie: niente, infatti, potrà fermare la nostra curiosità, la nostra fame di conoscenza, la voglia di spingerci oltre i limiti del nostro sguardo, là dove l'uomo non è ancora arrivato.

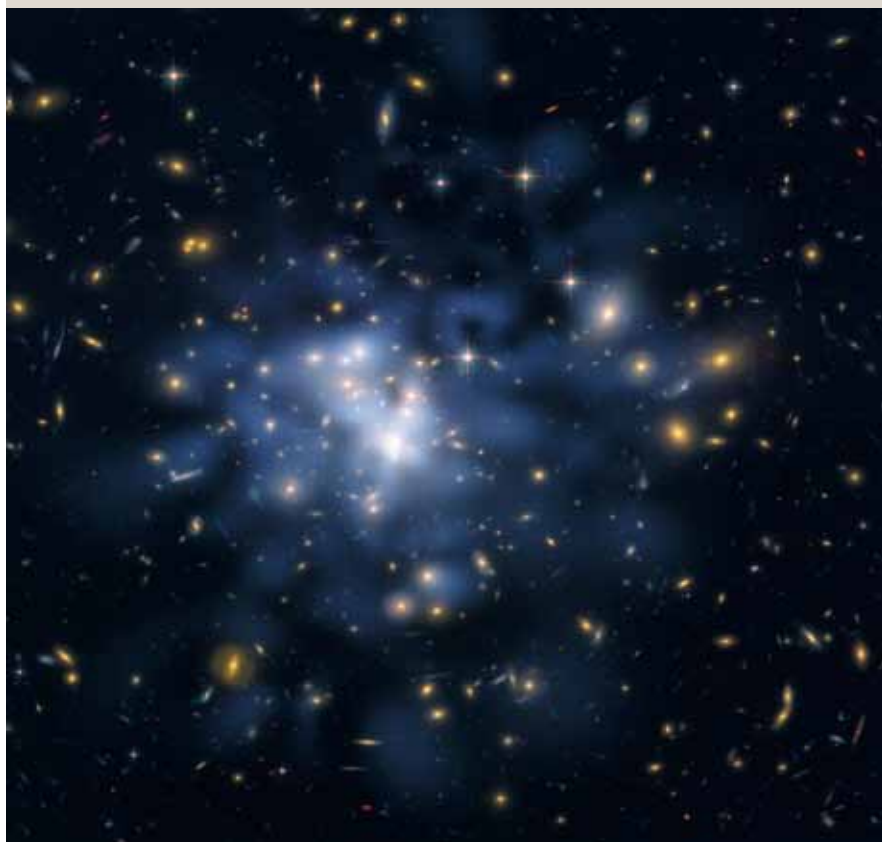
Antonio Loquercio
Allievo del Liceo Scientifico "A. Meucci" di Ronciglione (VT), classe 5^aB

Fulvio Zecchini
Consorzio INCA

LE PARTICELLE NON BARIONICHE

La più strana delle particelle non barioniche utilizzata per spiegare l'esistenza della materia oscura è forse il *neutralino*, elettricamente neutro ma con massa molto elevata. Particelle di questo genere sono definite *s-particelle* (super-particelle). Esse sono ancora puramente teoriche, non essendo state osservate in alcun esperimento, ma, in un futuro prossimo, con il miglioramento delle tecnologie a nostra disposizione, potranno probabilmente essere prodotte in laboratorio.

Sicuramente la più famosa s-particella è il *bosone di Higgs*, un ipotetico bosone massivo e scalare previsto dal *Modello standard,* la teoria quantistica attualmente più accreditata che descrive tutte le particelle elementari e tre delle quattro forze fondamentali ad oggi note (con l'esclusione della forza di gravità), di cui parleremo più diffusamente in uno dei prossimi numeri di *Green.* Semplificando molto, potremmo dire che essa prevede particelle costituenti la materia, i *fermioni* (quark, leptoni carichi e neutrini) e le particelle mediatrici delle forze, i *bosoni di gauge* (bosoni W^+, W^- e Z^0, fotoni e gluoni). Tutta la materia ordinaria che osserviamo nel mondo macroscopico è fatta da quark e leptoni. È infatti costituita da atomi, a loro volta composti da un nucleo fatto di protoni e neutroni, composti ciascuno da tre quark, e uno o più elettroni, i leptoni carichi con la minor massa.

Quella di Higgs è l'unica particella elementare prevista dal *Modello standard* la cui esistenza deve essere ancora verificata sperimentalmente, ma giocherebbe un ruolo fondamentale, in quanto portatrice di forza del *campo di Higgs* che, secondo questa teoria, permea l'universo e conferisce la massa alle altre particelle.

Mappa della materia oscura di Abell 1689. Quest'immagine elaborata nel 2002 dal telescopio spaziale orbitante Hubble (Nasa) mostra la distribuzione della materia oscura (visibile in blu) nel centro dell'ammasso di galassie gigante Abell 1689, distante da noi 2,2 miliardi di anni luce, che contiene un migliaio di galassie e milioni di miliardi di stelle.
[Immagine: NASA/JPL-Caltech/ESA/Institute of Astrophysics of Andalusia, University of Basque Country/JHU]

Computer di nuova generazione superveloci grazie all'uso del Dna

Biochimica e informatica il Dna computing

di Aldo Domenico Ficara

In questo articolo vedremo come si possono eseguire calcoli con il Dna, l'acido desossiribonucleico, sfruttando la sequenze nucleotidiche di suoi frammenti. Questa tecnologia sta alla base della realizzazione dei computer a Dna, altamente prestazionali, che in un futuro forse non troppo lontano potrebbero essere ospitati sulle nostre scrivanie. Qui intendiamo solo introdurre questo affascinante, quanto complesso, argomento, lasciando al lettore il compito di approfondire i vari aspetti e concetti legati alla matematica, all'informatica e alla biochimica o, meglio, alla biologia molecolare, disciplina che si occupa specificatamente di acidi nucleici. A tal scopo riportiamo alcuni link utili per una ricerca on-line a fine articolo.

Calcolare col Dna

George Boole (Lincoln, 1815 – Ballintemple, 1864), un brillante matematico britannico, nel 1854 elaborò una matematica algebrica, detta appunto "algebra booleana", che risultò di fondamentale importanza nella progettazione degli attuali computer. In questa disciplina, le procedure di calcolo si possono effettuare grazie a operatori matematici, corrispondenti alle leggi della logica: AND, OR, NOT e altri ancora.
Quando il matematico inglese Alan Mathison Turing (Londra, 1912 – Wilmslow, 1954) dimostrò formalmente la possibilità di realizzare una macchina in grado di eseguire qualsiasi algoritmo - una procedura di calcolo o, più in generale, l'elenco delle operazioni necessarie per risolvere un problema in un numero finito di passaggi - l'algebra di Boole salì prepotentemente alla ribalta. Era il 1936.
La macchina di Turing si compone di un nastro, che possiamo immaginare di carta e di una testina di lettura/scrittura (TLS) che scorre su di esso. Funziona su intervalli discreti di tempo, ad ogni istante il suo stato dipende da quello precedente; presenta le seguenti caratteristiche principali:

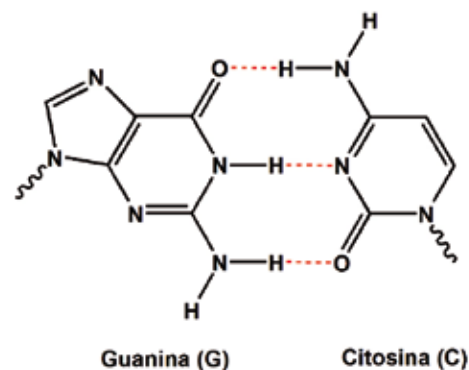
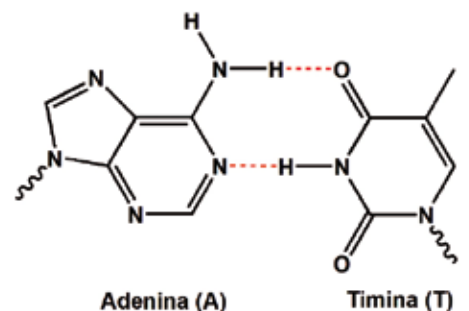
- Il nastro, considerato infinito a destra e a sinistra, è suddiviso in singole celle nelle quali può essere scritto un simbolo appartenente a un alfabeto predefinito.
- La TLS deve essere in grado di leggere e scrivere in una cella, muovendosi in tutti i due versi lungo il nastro.
- Il sistema che controlla la testina è definito istante per istante da cinque variabili:
  1. **s:** lo stato del sistema istantaneamente presente;
  2. **a:** il simbolo letto in un determinato istante;
  3. **S (s, a):** lo stato del sistema all'istante successivo, funzione dei primi due parametri;
  4. **A (s, a):** il simbolo scritto dal sistema all'istante successivo, funzione dei primi due parametri;
  5. **V (s, a):** il verso (movimento) del sistema (destra/sinistra), funzione dei primi due parametri.

Leonard Max Adleman (San Francisco, 1945) - matematico, informatico e biologo statunitense - nel 1994 notò la somiglianza fra l'enzima Dna-polimerasi e la macchina di Turing. L'idea geniale fu quella di costruire un computer simile a quest'ultima, il cui meccanismo di controllo fosse sostituito da un enzima. Partendo dalle scoperte relative al Dna e dalle tecniche già disponibili, gli elementi che potevano essere utilizzati erano:

1. la complementarità fra le eliche di Dna;
2. la polimerasi che riproduce le catene;
3. le ligasi che unisce due frammenti di Dna;
4. le nucleasi che "tagliano" le molecole di acidi nucleici;
5. l'elettroforesi su gel;
6. la sintesi artificiale di Dna.

Leonard Max Adleman può essere considerato il padre del computer a Dna.
[Immagine: Len Adlmen, 2010, Wikipedia Commons]

Questo tipo di approccio ha permesso di ottenere simulazioni dei processi di calcolo universali della macchina di Turing con tecniche computazionali innovative basate sul taglio, la fusione, l'accoppiamento e l'allungamento di stringhe. Il movimento delle "testine sui nastri" viene gestito sfruttando le proprietà di alcuni enzimi, in modo molto diverso da come avviene su di un normale nastro magnetico. Così si ottengono prestazioni di calcolo notevolmente maggiori (nel 2002 alcuni scienziati israeliani ottennero un valore superiore a 10^5) - grazie alla capacità di operare in parallelo, anziché in serie come nei comuni computer basati sulla tecnologia del silicio - e un notevole risparmio energetico.

L'idea iniziale del *Dna computing* è molto semplice: "calcolare" significa passare da dati iniziali a risultati finali che soddisfino certe condizioni risolutive, i quali sono sempre esprimibili con "parole" in un qualche linguaggio di rappresentazione dell'universo in cui si opera. Le molecole di Dna si possono assimilare a sequenze complementari, scritte sulla porzione di doppia elica, costruite a partire da quattro simboli - A, T, C, G - che rappresentano le iniziali dei nucleotidi che formano le catene della macromolecola: adenina, timina, citosina e guanina. Fare calcoli con l'acido desossiribonucleico, vuol quindi dire operare su "stringhe" composte con queste quattro lettere.
Nel momento in cui è definito un criterio di codifica è possibile trascrivere un'informazione su molecole di Dna. Per comprendere meglio quanto detto, consideriamo due lettere consecutive per indicare una cifra decimale, secondo lo schema: 0= AA, 1 = AT, 2 = TT, 3 =CC, 4 =CG, 5 = GG, 6 = AC, 7 = AG, 8 = TC, 9 = TG. In questo modo il numero decimale 750 è codificato

L'appaiamento fra le basi azotate delle due catene antiparallele che formano la doppia elica del Dna è determinato dalla loro struttura: tra adenina e timina si formano due legami a idrogeno (tratteggi in rosso), mentre fra guanina e citosina tre. I legami "ondulati" indicano il collegamento delle basi con lo scheletro laterale di desossiribosio e fosfato dei due filamenti.

Vertice	Sequenza oligonuclotide	Sequenza complementare
1	ACTTGCAG	TGAACGTC
2	TCGGACTG	AGCCTGAC
3	CCGAGCAA	GGCTCGTT
4	GGCTATGT	CCGATACA

I lati del grafo risulteranno quindi codificati nel modo seguente:

Lati	Sequenza risultante
1-2	GCAGTCGG
1-3	GCAGCCGA
2-4	ACTGGGCT
2-3	ACTGCCGA
2-1	ACTGACTT
4-3	ATGTCCGA

dalla stringa AG-GG-AA, o più semplicemente AGGGAA. Se a questo numero si volesse sommare 250, ovvero TT-GG-AA, si otterrebbe come risultato finale 1000, cioè la stringa AT-AA-AA-AA.
Questo calcolo parte da una provetta in cui vi siano inizialmente gli oligonucleotidi AGGGAA e TTGGAA in soluzione acquosa, ognuno con una concentrazione di una picomole (10^{-12} moli, per il significato di mole vedi *Green* n. 2, pagg. 39-40, *ndr*). Con opportuni accorgimenti tecnici di biologia molecolare - aggiungendo gli enzimi che regolano la sintesi, la scissione e l'unione delle catene di Dna - si fa in modo che, alla fine, il processo risulti nella formazione di un solo oligonucleotide con sequenza AT-AA-AA-AA che corrisponde, secondo la nostra codifica, a 1000, proprio la somma di 750 e 250.
Quindi con il *Dna computing* è possibile codificare i dati con sequenze nucleotidiche poste in una provetta iniziale, applicare delle "operazioni" che trasformano il contenuto della provetta e, alla fine, "leggere" il risultato nella sequenza formatasi, secondo un opportuno criterio di decodifica.

Il cammino "hamiltoniano"

Nel campo matematico della *teoria dei grafi*, un cammino in un *grafo* - che, semplificando, potremmo definire come un insieme di elementi detti *nodi* o *vertici* collegati fra loro da *archi* o *lati* - è detto "hamiltoniano" se esso tocca tutti i vertici del grafo una e una sola volta. Determinare se questo esista comporta la ricerca di una permutazione complessa che può essere risolta grazie al *Dna computing*. Si ha un ciclo hamiltoniano se esiste un lato che collega l'ultimo vertice con il primo, realizzando così un percorso che visita tutti i vertici per poi ritornare al punto di partenza. Un grafo che contenga almeno un ciclo di tale tipo viene detto hamiltoniano.
Descriviamo questo complesso procedimento usando un grafo con soli quattro vertici 1, 2, 3, 4 e un cammino di sei lati, nel quale si vuole determinare l'esistenza di un cammino hamiltoniano che inizia nel vertice 1 e termina nel 3 (figura a sinistra). Codifichiamo i vertici e i lati con sequenze di soli 8 nucleotidi. Il lato 1-2 sarà codificato dalle quattro ultime lettere del lato 1 e dalle prima quattro del 2. E così sarà per gli altri. Codificati i nomi dei vertici e dei lati, si sintetizzano artificialmente filamenti di Dna corrispondenti ai codici dei lati e ai complementari di quelli dei vertici.
Lo step 1 dell'algoritmo è realizzato inserendo in una provetta un numero congruo di filamenti di ciascuno dei Dna sintetizzati - assieme ad acqua, all'enzima ligasi, sali e altre sostanze che favoriscano l'unione di oligonucleotidi - formando tutti i possibili percorsi tra i vertici del cammino proposto. Quando le corte catene con la sequenza che codifica il lato 1-2, GCAGTCGG e quelle con il codice complementare del vertice 2, AGCCTGAC, si incontrano, poiché la seconda parte della prima, TCGG, è complementare alla prima della seconda, AGCC, le due sequenze si appaiano (figura in basso a sinistra).
Successivamente il filamento ACTGGGCT che codifica il lato 2-4 incontra il nome complementare del vertice 2 e si unirà ad esso, poiché la sua parte iniziale ACTG è complementare di TGAC, la sequenza finale di 2 (figura in basso a destra).
In questo modo si formano catene che codificano i lati e sono tenute insieme dai Dna complementari dei vertici. Questi legami sono resi stabili dall'enzima *ligasi* presente nella soluzione che salda le catene laterali di desossiribosio e fosfato (mostrate in verde in figura), una volta che si sono appaiate. Nella provetta quindi si formano molecole di Dna che codificano percorsi casuali attraverso i vertici del grafo e tra di essi troveremo anche la soluzione del nostro problema "hamiltoniano". Il passo successivo, decisamente non banale, è quello di riconoscere questo oligonucleotide e di separarlo dagli altri che si sono formati contemporaneamente.
Per realizzare il secondo step dell'algoritmo, si devono scartare, ricorrendo alla polimerasi, ovvero alla replicazione di nuovi filamenti di Dna, tutti i percorsi che non iniziano e terminano nei vertici desiderati. Il terzo si basa sull'elettroforesi su gel di

agarosio, che permette di separare tutte le molecole di Dna che hanno la lunghezza giusta, nel nostro caso 24 nucleotidi. Mentre il quarto prevede l'eliminazione dei percorsi che non passano per tutti i vertici. Questa fase è realizzata usando iterativamente la separazione per affinità, che sfrutta il principio di complementarietà delle basi, mediante il quale, partendo dalla codifica di un vertice, si separano usando una colonna che contiene opportuni frammenti immobilizzati di Dna tutte le sequenze che contengono quel vertice.
Nella passo finale, il quinto, si verifica la presenza nella provetta di almeno una molecola di Dna, questa fase avviene amplificando il risultato della fase precedente, cioè moltiplicando enormemente l'oligonucleotide presente grazie alla tecnica nota come PCR, *Polymerase Chain Reaction*, che sfrutta le capacità replicative del Dna dell'enzima polimerasi. Il prodotto di reazione viene nuovamente controllato mediante elettroforesi su gel per verificare che abbia la lunghezza prevista. Nel nostro calcolo si ottiene come risultato la sequenza GCAGTCGG-ACTGGGCT-ATGTCCGA corrispondente al cammino 1-2, 2-4 e 4-3.

Un problema "booleano"

Un altro algoritmo risolvibile con il *Dna computing* è quello della soddisfacibilità di un problema booleano rappresentabile con una formula contenente un insieme finito di variabili $\{x_1, x_2, \ldots, x_n\}$ e i connettori logici AND, OR, NOT. Una funzione booleana B $\{x_1, x_2, \ldots, x_n\}$ si dice soddisfacibile se esiste almeno una sequenza di n valori scelti in {0,1}, per i quali essa assume il valore 1. Un esempio:

B(x,y) = (x OR y) AND (x' OR y')

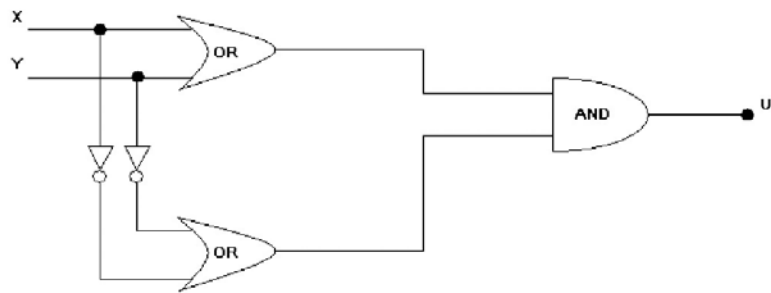



TABELLA DI VERITA'

PORTA AND

X	Y	U
0	0	0
0	1	0
1	0	0
1	1	1

U = X • Y

PORTA OR

X	Y	U
0	0	0
0	1	1
1	0	1
1	1	1

U = X + Y

è soddisfacibile poiché

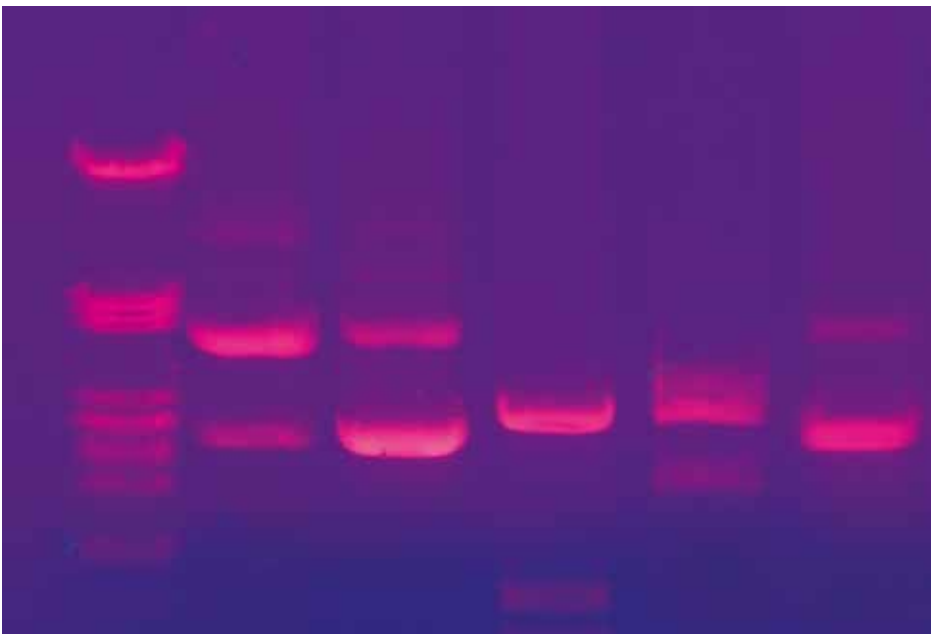
B(1,0) = (1 OR 0) AND (0 OR 1) = 1 AND 1 = 1

Qui sopra è riportata una rete combinatoria, con relative tabelle di verità, associabile alla funzione booleana considerata.
Nonostante la complessità dell'argomento trattato in estrema sintesi, siamo in presenza di temi dall'alto valore didattico; affascinanti esempi della sempre maggior interdisciplinarità della scienza e, in particolar modo, delle nanotecnologie: nei casi esposti, si passa dall'informatica alla biologia e dalla matematica booleana all'elettronica digitale.

Aldo Domenico Ficara
Ingegnere elettrotecnico
Docente di elettrotecnica
presso l'IIS di Furci Siculo (ME)

APPROFONDIMENTI IN RETE

- "Calcolare con il Dna" di Raffaella Franci (http://www.mat.unisi.it/matnews/219.doc)
- "Frontiere della ricerca. DnaComputing il calcolatore in provetta" di Vincenzo Manca, Mondo Digitale n. 4 dicembre 2006 (http://www.mondodigitale.net/Rivista/06_numero_5/Manca_p._19-32.pdf).
- Dispense di nanotecnologie del blog "Dieci alla meno nove" (http://chiacchieresulnano.blogspot.com).
- Dna computing su Wikipedia (http://en.wikipedia.org/wiki/DNA_computing)

Elettroforesi su gel di agarosio. Frammenti di Dna (oligonucleotidi) di diversa lunghezza possono essere separati con questa tecnica, facendoli "correre" su un gel immerso in un'opportuna soluzione attraversata da un campo elettrico. Il Dna si muove verso il polo positivo (in basso). Alla fine della corsa, i frammenti più piccoli arrivano più lontano, potendo penetrare più facilmente tra le maglie polisaccaridiche del gel. Uno standard di lunghezza detto "molecular ladder" (corsia di sinistra) permette valutare il numero di nucleotidi di cui sono composti i frammenti per confronto del tratto percorso. Per visualizzare i frammenti di Dna il gel è stato colorato con etidio bromuro e poi fotografato agli UV.

Carta fotovoltaica

Pare una normale stampa su carta comune di un disegno geometrico, pieno di piccoli rettangoli scuri. Invece è un pannello solare, assolutamente flessibile, tanto da poter essere piegato e messo in tasca, realizzato con una tecnologia "a getto d'inchiostro" ispirata a quella delle nostre stampanti. Il materiale fotovoltaico viene spruzzato sul foglio con opportuni accorgimenti tecnici e quest'ultimo diventa capace di catturare l'energia del Sole, trasformandola in elettricità.

La nuova tecnologia è stata sviluppata da un team statunitense del *Massachusetts Institute of Technology* (MIT) di Cambridge, la cui ricerca è stata pubblicata l'8 luglio scorso sulla versione online di *Advanced Materials*. E ci piace sottolineare che il primo dei nove autori elencati è il giovane studente di laurea specialistica Miles C. Barr.

Si può impiegare carta comune per la "stampa" di celle fotovoltaiche grazie all'uso innovativo di vapori a 120 °C e non di "inchiostri" liquidi e/o alte temperature, come fatto in precedenza per ottenere pannelli flessibili; queste condizioni "blande" di fabbricazione permettono anche l'utilizzo di supporti di stoffa o plastica.

Certo non è semplice come stamparsi una fotografia delle vacanze col PC di casa. Per creare l'*array* di celle fotovoltaiche (i rettangolini scuri visibili sul foglio) devono essere depositati sottovuoto su uno stesso foglio ben cinque strati di materiale, con passaggi successivi, utilizzando un'apposita maschera che può essere anche di carta. Il processo è in realtà più simile a quello utilizzato per depositare lo strato argentato interno protettivo nei sacchetti per patatine e snack simili, economico e utilizzabile su larga scala.

Le celle sono resistenti e funzionano anche se il foglio di carta è piegato più volte, magari per creare un fantasioso origami. Inoltre, alcune prove realizzate su film di PET hanno dimostrato che possono essere piegati per 1.000 volte senza perdite significative di prestazioni. La leggerezza di questi nuovi pannelli potrà, inoltre, permettere di raggiungere alte rese energetiche per chilogrammo di peso del sistema.

Il grande vantaggio di questa nuova tecnologia sta nella sua economicità con possibilità di utilizzo di massa. Nei comuni pannelli fotovoltaici moderni, i costi dei componenti inattivi - come il supporto (vetro ecc.) e altre strutture meccaniche - o dell'installazione spesso superano quelli del materiale attivo che produce elettricità. La nuova tecnologia sviluppata dal Mit permette invece di stampare i fogli e di appenderli semplicemente a un muro, per ottenere magari una carta da parati fotovoltaica. E molti altri ancora sono gli utilizzi fantasiosi che saranno resi possibili dall'uso di supporti in stoffa o plastica.

Allo stato attuale, uno dei maggiori problemi del sistema è la bassa resa di conversione dell'energia solare che si attesta attorno all'1%, contro il 20% circa delle tecnologie fotovoltaiche più comuni. Gli sforzi della ricerca si stanno quindi orientando verso l'aumento dell'efficienza della "carta fotovoltaica" che è comunque già utilizzabile per alimentare piccoli strumenti elettronici.

F.Z.

Immagine: Patrick Gillooly

Sole stanco

Le macchie solari e le altre attività del Sole aumentano e diminuiscono con un ciclo di 11 anni, la metà del periodo d'inversione dei poli magnetici della nostra stella. Quello corrente è il 24° da quando siamo in grado di osservare il fenomeno; è iniziato nel 2008 e dovrebbe arrivare al picco verso il 2013. Studi indipendenti sulla massa interna, sulla superficie e sulla corona solare indicano, però, che il prossimo ciclo, il 25°, dovrebbe essere assai ridotto o non comparire affatto.
"Questo è decisamente inusuale e inatteso - afferma Frank Hill dell'NSO - ma vi sono tre osservazioni del Sole, di natura decisamente diversa, le quali puntano nella stessa direzione e ciò rappresenta un'indicazione significativa che il ciclo delle macchie solari potrebbe essere sul punto di entrare in uno stato di ibernazione".
Infatti, a questo punto, i fenomeni che preludono all'inizio del ciclo successivo dovrebbero essere rilevabili, ma non lo sono. Pertanto, sempre secondo Hill, esso potrebbe essere ritardato al 2021-2022 o non comparire affatto. Oltretutto, secondo studi sulla corona solare effettuati dal gruppo di Richard Altrock dell'AFRL, il picco del 2013 potrebbe essere relativamente basso.
La domanda che si pongono i ricercatori è se siamo di fronte ad un altro periodo di minima attività delle macchie solari, come già avvenuto nel periodo 1645-1715 in cui per 70 anni esse furono praticamente assenti, noto come "minimo di Maunder".
"Se abbiamo ragione - continua Hill - questo (del 2013, *ndr*) potrebbe essere l'ultimo picco dell'attività solare che vedremo per diversi decenni. Ciò influenzerebbe tutto, dall'esplorazione spaziale al clima sulla Terra". In seguito, lo scienziato dell'NSO ha chiarito che il suo gruppo non sta predicendo una mini-era glaciale, ma un comportamento inusuale dell'attività solare, le cui connessioni coi cambiamenti climatici sono ancora poco note. Secondo i suoi calcoli, un nuovo minimo di Maunder porterebbe ad una diminuzione della temperatura media del nostro pianeta di 0,3 °C, troppo poco per scatenare una nuova glaciazione, come qualcuno ha ipotizzato. Però, se il fenomeno durasse alcuni decenni potrebbe mitigare marginalmente l'effetto del riscaldamento globale, a seguito del quale si prevedono aumenti della temperatura media di 2,0-4,5 °C da qui al 2100. Ironicamente sarebbe proprio il Sole a raffreddare la Terra…

R.G.

A metà del giugno scorso, i ricercatori statunitensi del National Solar Observatory (NSO) e dell'Air Force Research Laboratory (AFRL) hanno riscontrato che l'attività solare sta rallentando. Ciò potrebbe preludere a un periodo di relativa inattività della nostra stella, di "riposo". Secondo i calcoli dell'NSO le conseguenze sulla temperatura media della Terra sarebbero marginali. Non si verificherebbe, cioè, la mini-era glaciale che qualcuno ha ipotizzato.

Il Sole osservato alla luce visibile in un periodo di minimo (2006, a sinistra) e di massimo dell'attività delle macchie solari (2001, a destra).
[Immagine: National Solar Observatory, Usa]

Un'immagine dettagliata di un gruppo complesso di macchie solari che mostra delle "ombre" scure, altamente magnetizzate, e delle "penombre", dove è visibile una struttura ben definita.
[Immagine: National Solar Observatory, Usa]

Da "Il Profeta" (1923) di ***Kahlil Gibran***
(Bsharri, 1883 – New York, 1931),
Poeta, pittore e filosofo libanese

L'Assemblea Generale delle Nazioni Unite ha proclamato il 2011 "Anno Internazionale delle Foreste" per sostenere la gestione, la conservazione e lo sviluppo sostenibile delle foreste di tutto il mondo.
http://www.un.org/en/events/iyof2011/